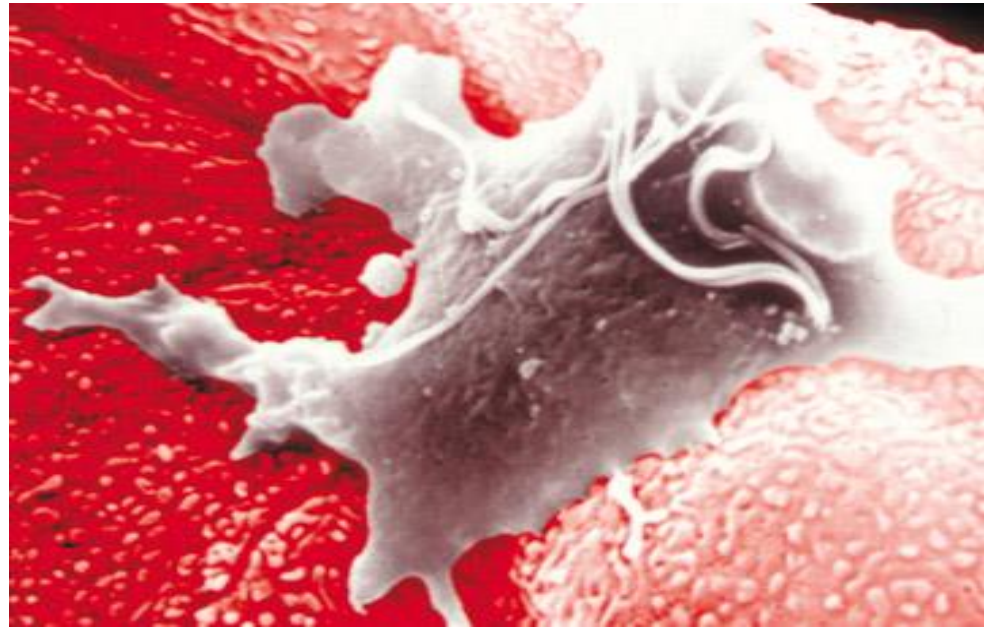


Classificação dos Parasitas do Homem segundo seu Mecanismo de Transmissão

Parasitoses cuja transmissão decorre de promiscuidade, contato entre pessoas e seus objetos de uso pessoal

Protozoários



Trichomonas vaginalis

- A **Parasitologia** é a ciência voltada para o estudo dos parasitas. Os cientistas que atuam nesta área estudam o ciclo de vida dos parasitas, doenças transmitidas, formas de combate aos parasitas humanos, genética e morfologia destes seres.

Os parasitas são seres vivos que retiram de outros organismos os recursos necessários para a sua sobrevivência.

Informações sobre os parasitas (características principais):

Eles são considerados agressores, pois prejudicam o organismo hospedeiro através do parasitismo.

O parasita pode viver muitos anos em seu hospedeiro sem lhe causar grandes malefícios, ou seja, sem prejudicar suas funções vitais.

Entretanto, alguns deles podem até levar o organismo à morte, neste caso, porém, o parasita sucumbirá junto com seu hospedeiro, uma vez que, era através dele, que ele se beneficiava unilateralmente.

Os seres que **parasitam o homem podem ser** divididos em cinco filos:

- **Protozoa**: composto por seres unicelulares, eucarióticos com compartimentalização subcelular com núcleo... Nutrição heterotrófica (ex: giárdia, trichomonas, etc).
- **Platyhelminthes**: vermes de forma achatada (ex: taenia solium e saginata).
- **Nematoda**: vermes de forma arredondada (ex: ascaris lumbricoides, causadora da ascaridíase).
- **Acantocephala**: vermes de forma arredondada com pseudo-segmentação.
- **Arthropoda**: formado por insetos, ácaros em geral (ex: aracnídeos, insetos).

What are parasites?

- Symbiosis: close and often long-term interaction between two or more different biological species
- Mutualism - both individuals benefit
- Commensalism - one benefits, the other is not significantly harmed or helped
- Parasitism - one benefits, the other is harmed

Life cycles

- Many parasites discussed today are protozoa
- Some protozoa have life stages alternating between stages
 - Trophozoites – actively feeding
 - Cysts – can survive harsh conditions or long periods without access to nutrients, water or oxygen for extended period of time
 - Encystation
 - Excystation

Tricomoniase: doença

Classe: Trichomonadae

Família: Trichomonadidae

Parasitas de invert. e vertebrados

Gênero: *Trichomonas*

1. Espécies parasitas do homem

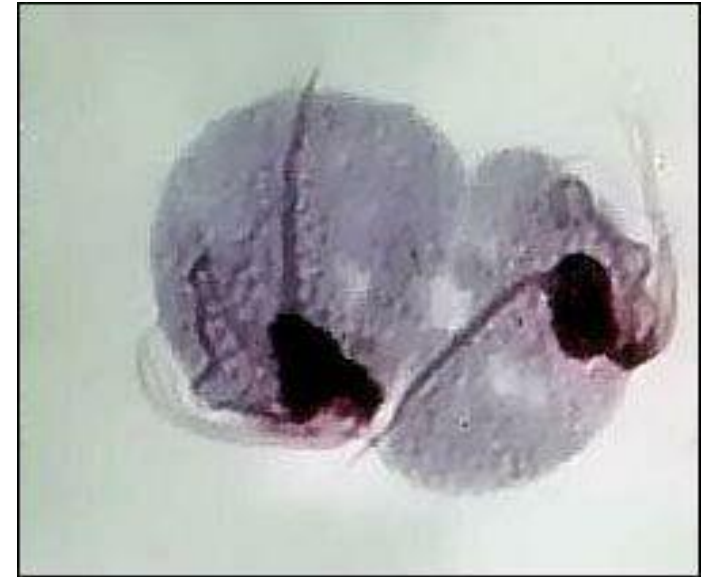
T. vaginalis - vagina e uretra

T. tenax - cavidade bucal

P. hominis - intestino

2. Importância veterinária

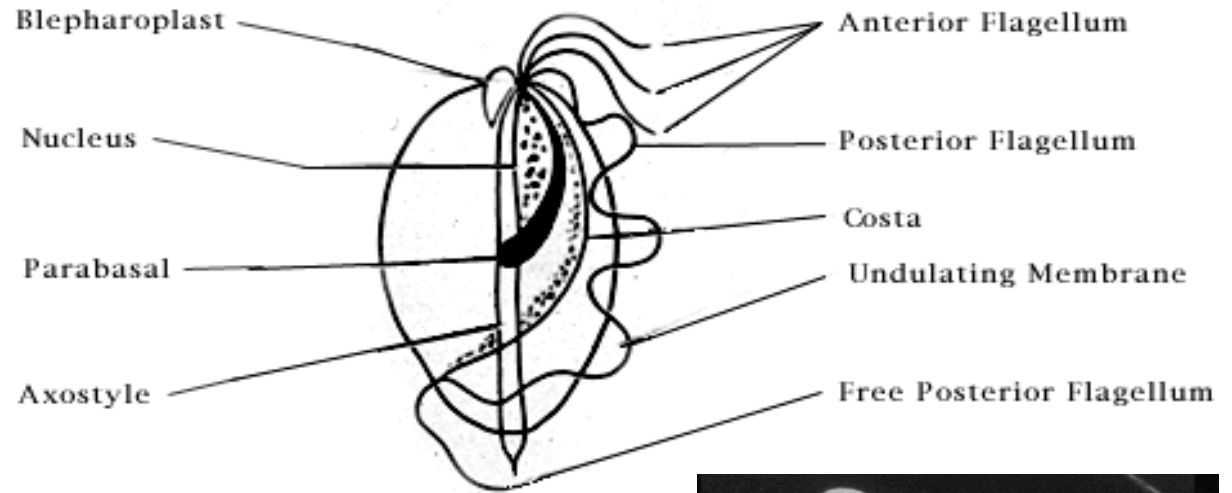
Tritrichomonas foetus



Trichomonas vaginalis

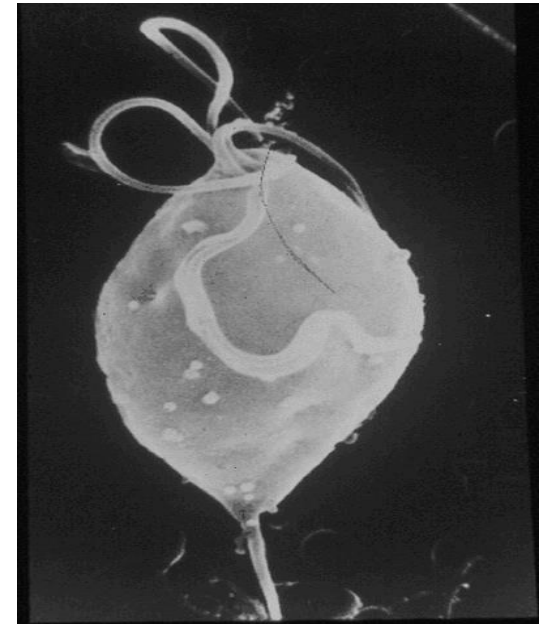
Trofozoítos

- piriformes
 - 4 flagelos livres anteriores
 - 1 posterior
- com membrana ondulante
- divisão binária
 - habitat: trato urogenital



não tem mitocôndria

- hidrogenossomos
- anaeróbio
- metabolismo: glicose, glicogênio, etc



Trichomonas vaginalis

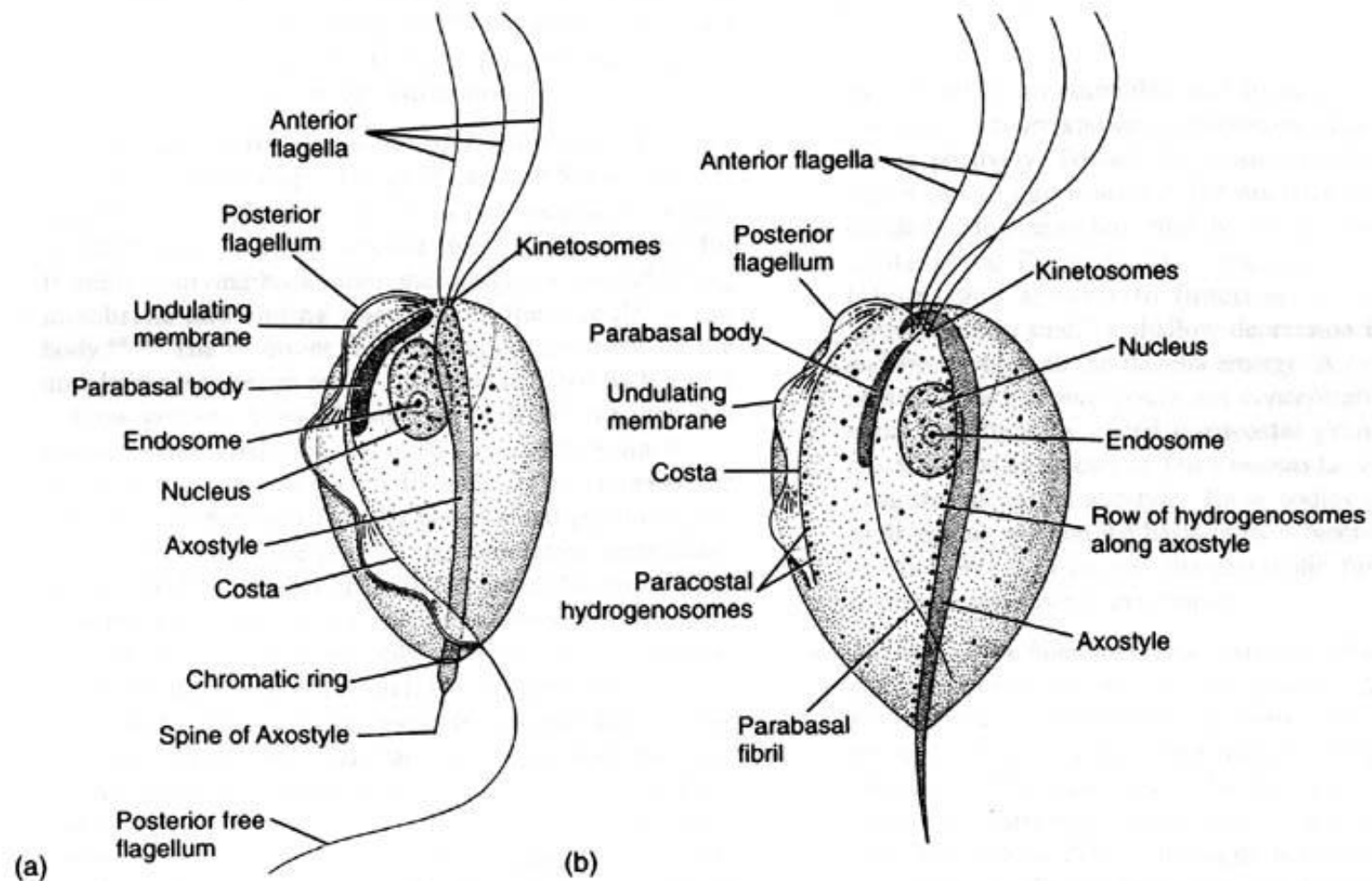


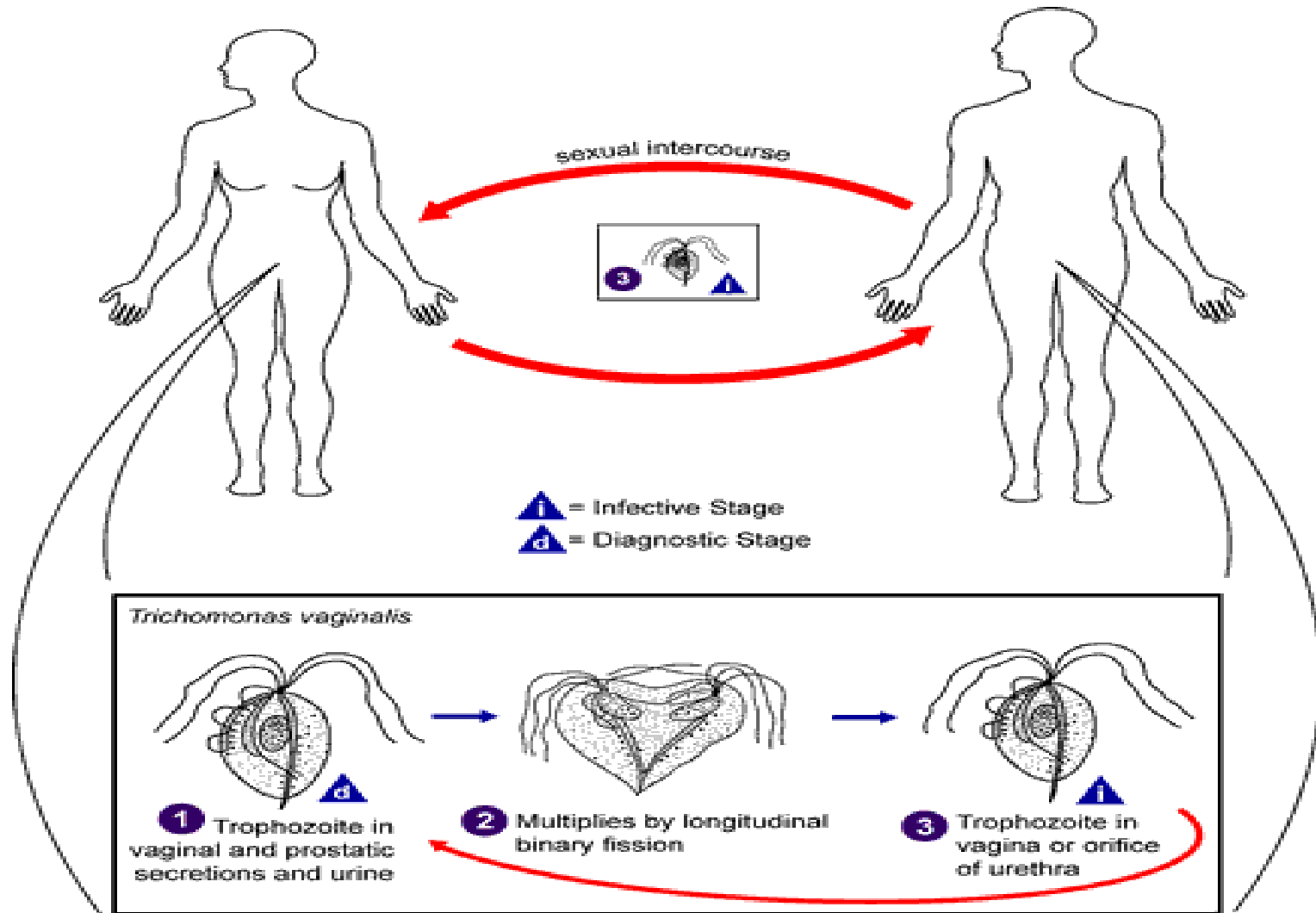
Figure 6.12

Morphology of trichomonads: (a) *Tritrichomonas foetus*; (b) *Trichomonas vaginalis*. The hydrogenosomes are not always in a definite row.

Source: Drawn by William Ober from D. H. Wenrich and M. A. Emmerson, "Studies on the morphology of *Tritrichomonas foetus* (Riedmüller) from American cows" in *J. of Morphol.* 55:195, 1933.

Trichomonas vaginalis

ciclo de vida direto



Não há formação de cistos!

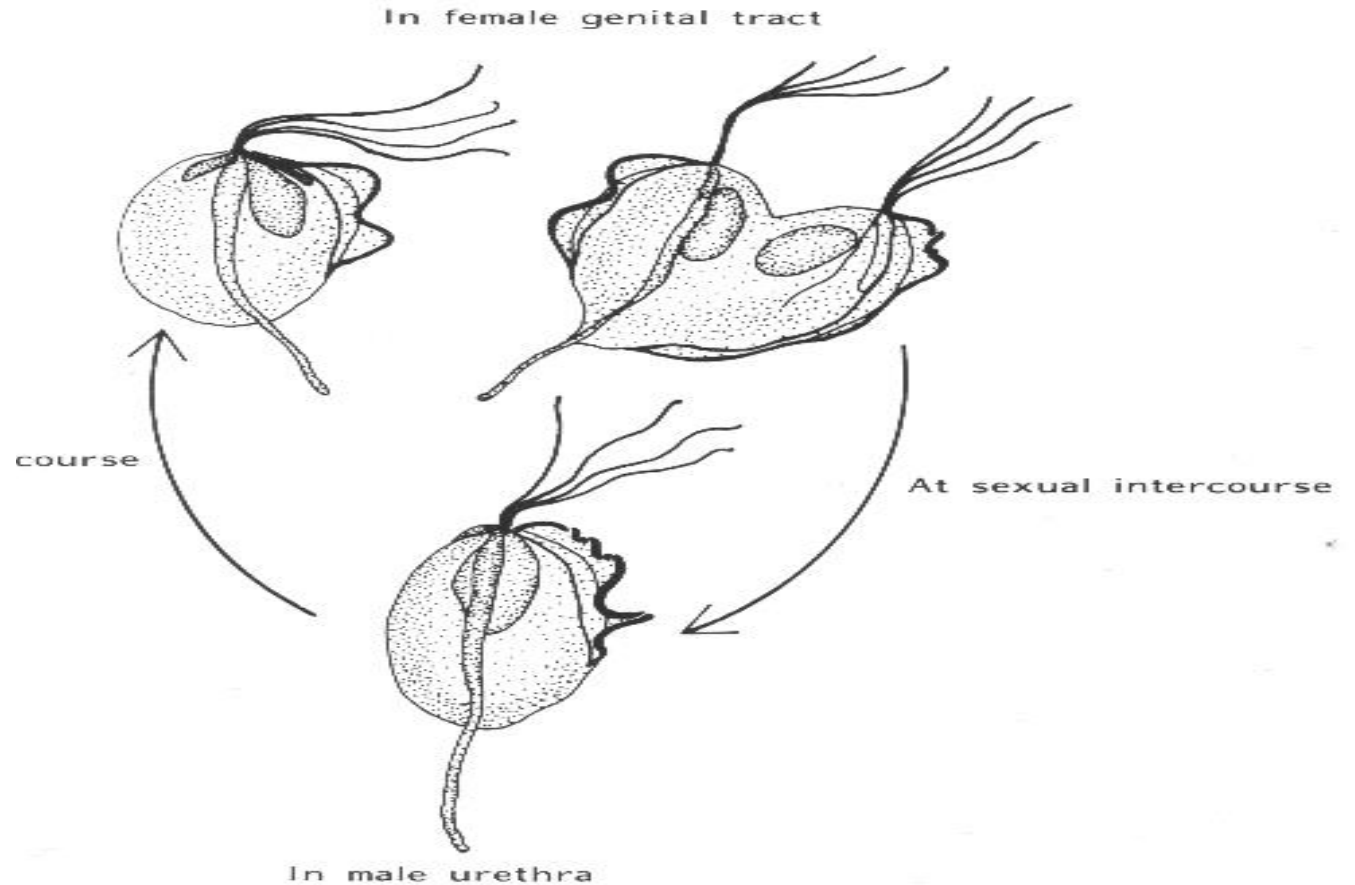
Trichomonas vaginalis

Mecanismos de Transmissão

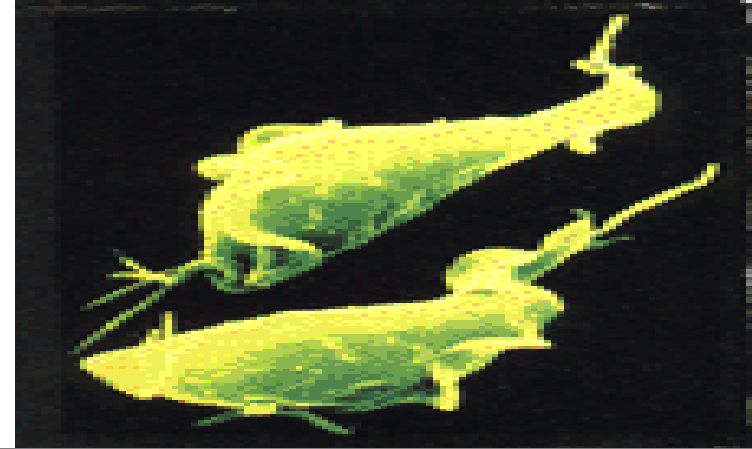
1. sexual
+ freqüente

2. Água de banho,
roupas molhadas,
sanitários, etc

Vida média
secreção vaginal: 6hs
Água: 2hs



Patologia Tricomoníase



A infecção não se estabelece em vaginas normais
- facilitada por alterações da flora bacteriana, aumento do pH,
descamação excessiva, etc.

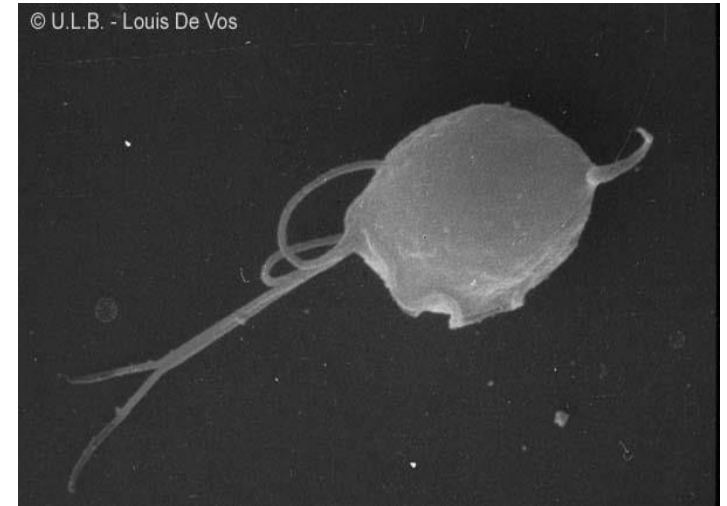
Acarretadas por alterações hormonais, inflamações, etc

a) Forma assintomática - + comum homens: subclínica e benigna

b) Forma sintomática - + comum mulheres: vaginite, vulvovaginite e cervicite
Corrimento, forte prurido, ardor

pessoas infectadas - risco maior de adquirir HIV

Mecanismos de Patogenicidade



Adesão - moléculas de superfície

Efeito citopático

enzimas hidrolíticas - cisteíno-proteases

fatores de descolamento de células?

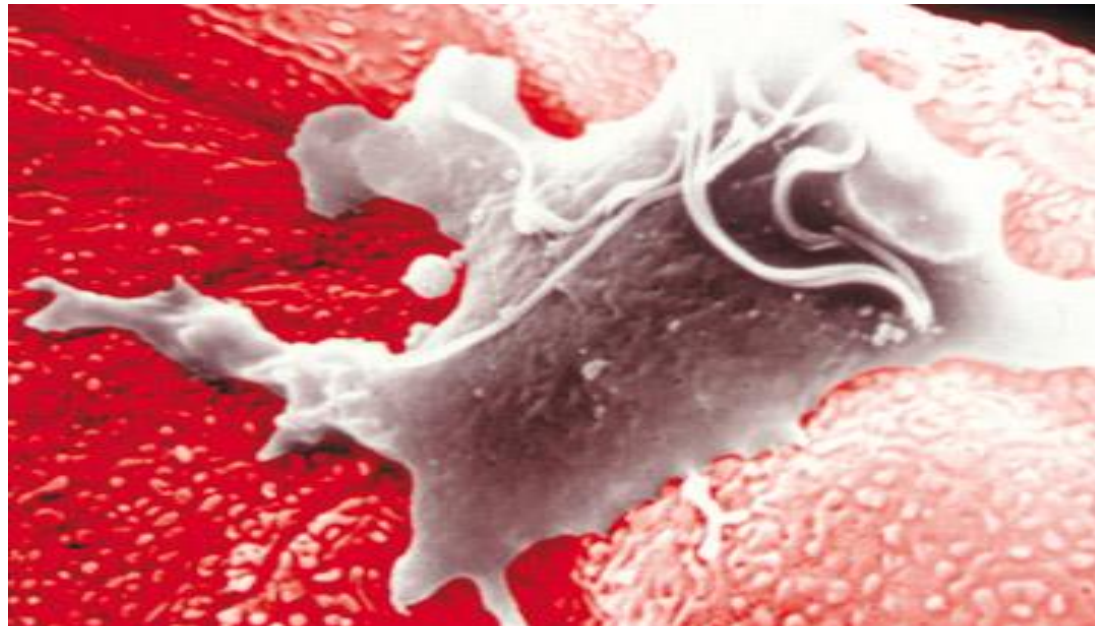
Processo inflamatório das células epiteliais - secreção branca e sem sangue (leucorréia) - descamação do epitélio que pode levar à ulceração

Trichomonas vaginalis

Relação parasita-hospedeiro

Resposta imune protetora- IgA secretora

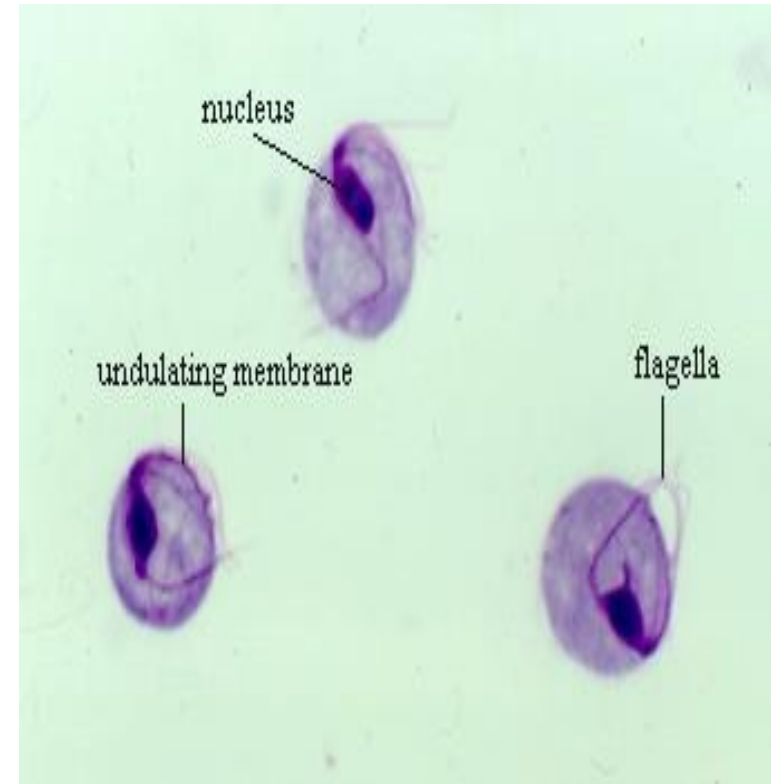
Reinfecções - ausência de imunidade adquirida
- grande variabilidade de isolados



Trichomonas vaginalis

Diagnóstico

- **Clínico:** quadro muito variável
leucorréia pode ter outras causas
(~70% casos - Tricomoniase)
- **laboratorial**
 - direto mulher: secreção vaginal,
homem: sedimento urinário
secreção uretral ou prostática
- Cultura
- PCR



Trichomonas vaginalis

Epidemiologia e Tratamento

Cosmopolita: 20-40% mulheres (16-35 anos)

10-15 homens?? (casos não diagnosticados)

Doença venérea

Controle: educação sanitária, diagnóstico e tratamento precoce (inclusive de parceiros!)

Vacinas?

Tratamento: Nitroimidazólicos

metranidazol, ornidazol, etc: via oral e gel/creme vaginal

Tratamento parceiros é indispensável

Trichomonas Vaginalis – Diagnosis and Treatment

Diagnosis (12%):

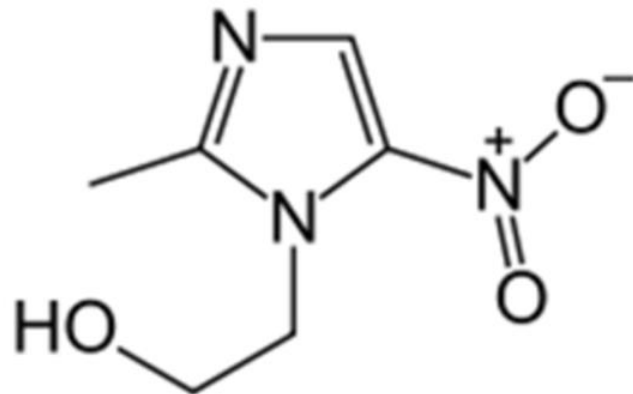
- Physical Exam: Nearly Impossible
- Laboratory: Microscopic Observation of Discharge
Very Low Sensitivity

Treatment:

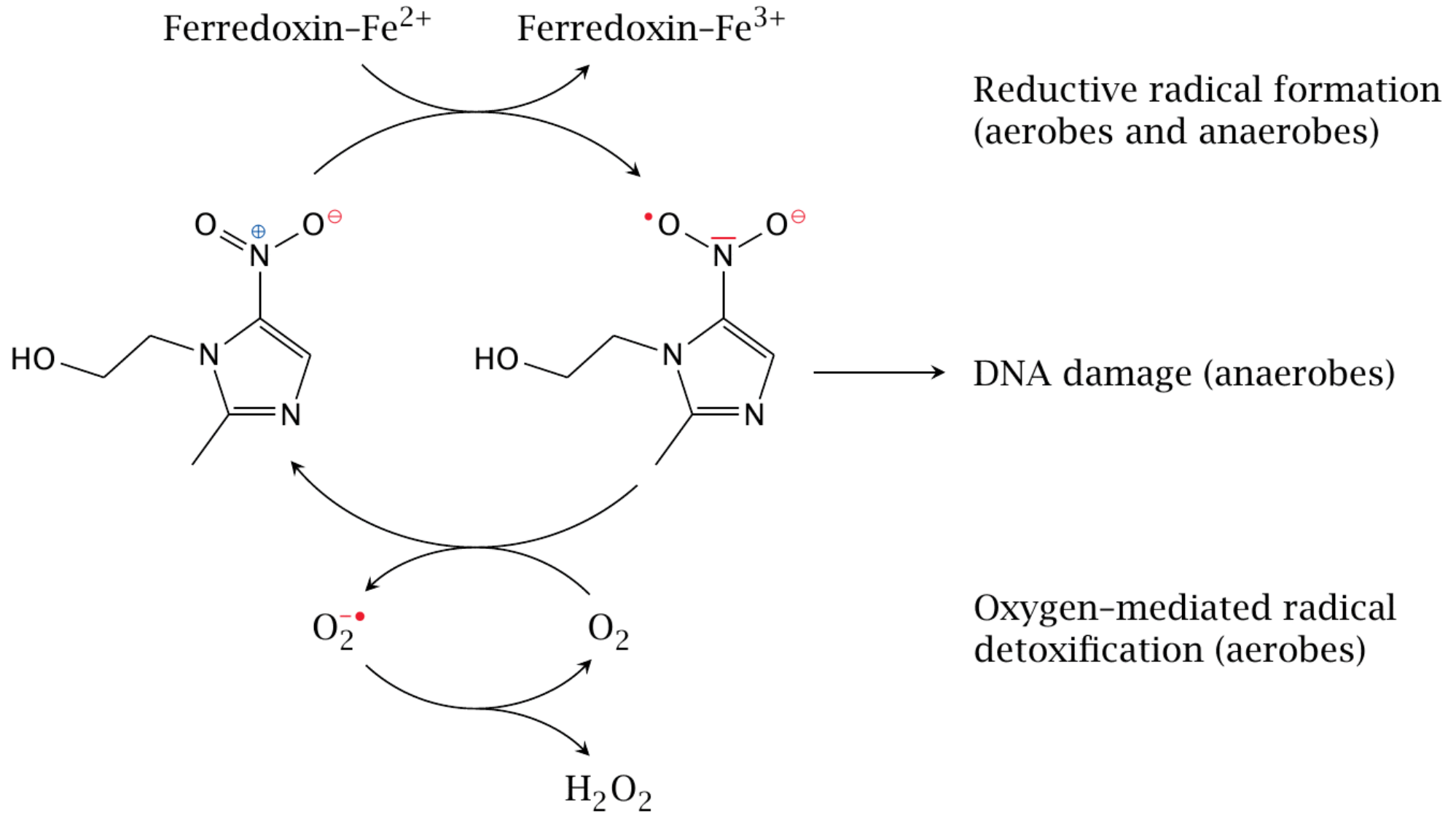
- Metronidazole (antibiotic)
 - One large (2 gram) dose
- Passes through mucous membrane into protozoa
- Resistant Strains Exist
- Treatment is a Challenge

Prognosis:

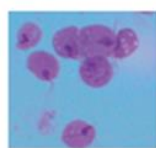
- Most commonly cured STI
 - 95%



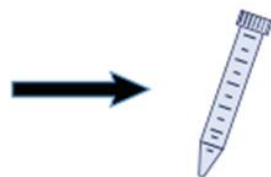
Mechanism of action of metranidazol...



(1) Determining the genetic basis of drug resistance from lab-adapted isolates



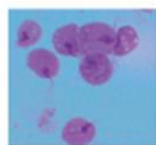
Lab-adapted sensitive parasite



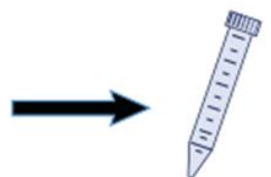
Selective culturing of the sensitive parasites under different drug concentrations

Drug resistance test based on MLC

(2) Determining the genetic basis of drug resistance in clinical isolates:



Parasites that have failed treatment, collected from vaginal swabs



Grow in culture

Drug resistance test based on MLC

Parasite DNA

(a) PCR-based analysis of candidate genes

and/or

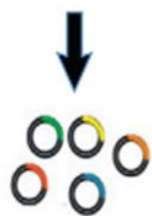
(b) Comparative genomics (WGS) of sensitive and resistant laboratory strains or patient isolates

and/or

(c) Functional selection



Shared genomic DNA

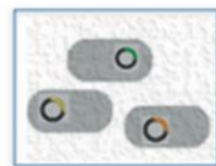


Recombinant library

Sequencing and identification of positive clones



Screen for positive clones on media with differing levels of drug



Transformation of *E. coli*

Trichomonas tenax

Cosmopolita

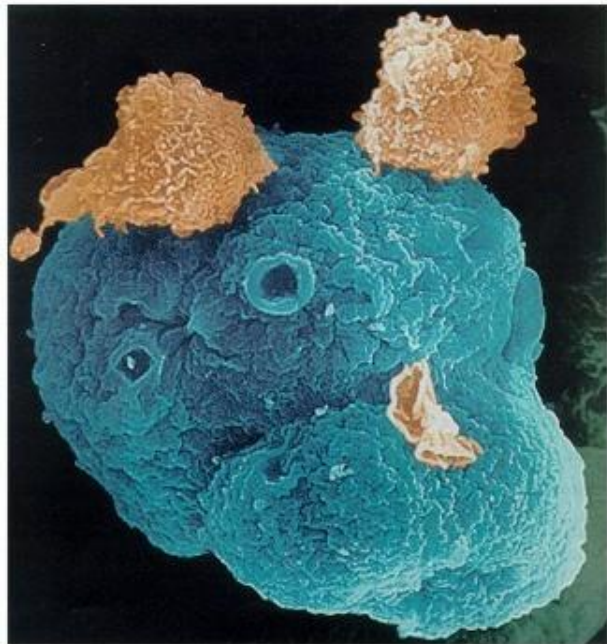
Morfologia semelhante *T. vaginalis* (menor)

Habitat: cavidade bucal (tártaro)

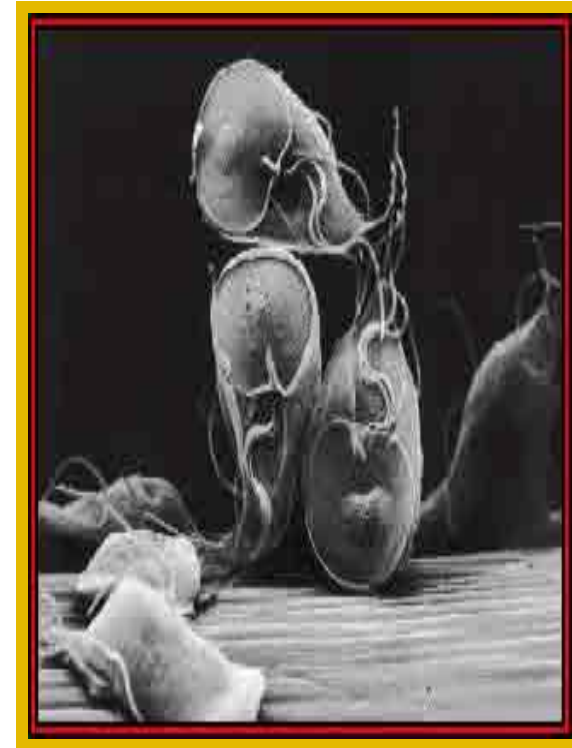
Não é patogênico

Transmissão saliva

Parasitoses Veiculadas por água, alimentos, fômites e outros veículos



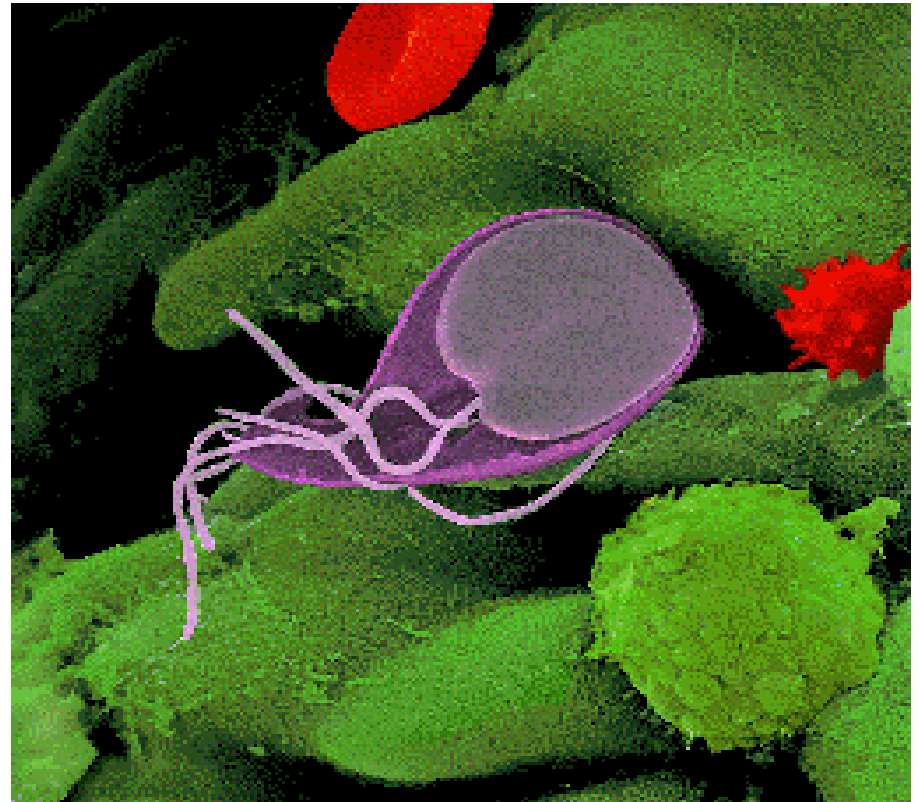
Protozoários
Giardíase e Amebíase



Protozoários Cavitários

Giardíase

Giardia duodenalis



Giardia duodenales

Ordem Diplomonadina
Gênero *Giardia*

Espécie parasita do homem:
G. duodenales
ou *G. lamblia* ou *G. intestinalis*

Homem, animais domésticos e silvestres
- 2 grupos genotípicos principais



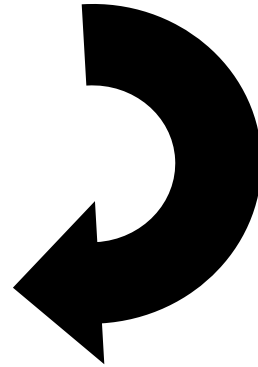
Giardia duodenales

Ciclo de vida: **Cisto e trofozoíta**

Transmissão
ingestão de cistos

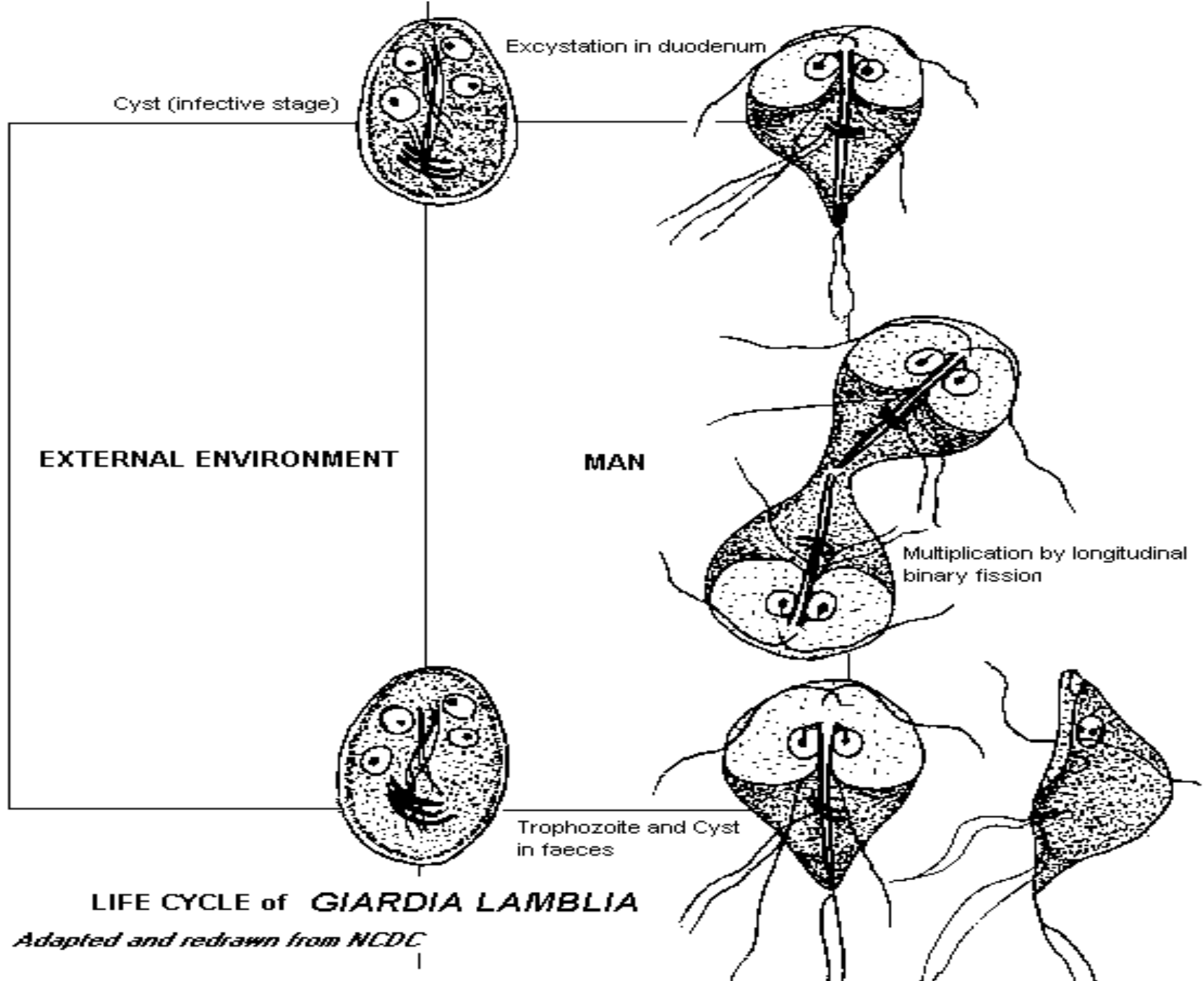
1. Água
2. Alimentos
3. direto

Cisto



Fezes

Trofozoíta

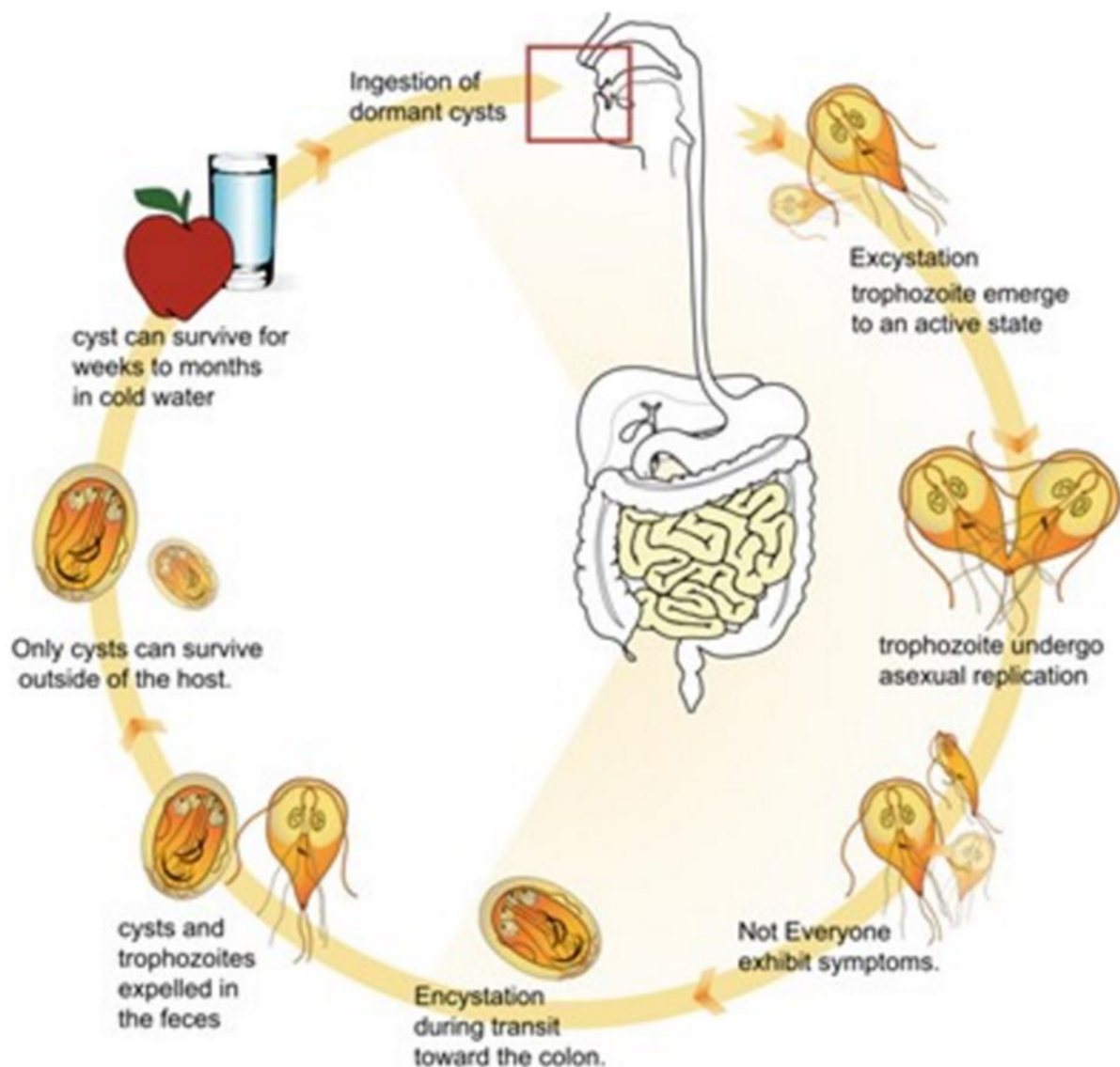


LIFE CYCLE of *GIARDIA LAMBLIA*

Adapted and redrawn from NCDC

Giardia lamblia

- Fecal-oral route
- Noninfective cyst excreted from feces of infected individual
- Once ingested by a host, trophozoite emerges to an active state of feeding and motility
- After feeding, trophozoite undergoes binary fission



Giardia duodenales

Formas de vida

Trofozoíto

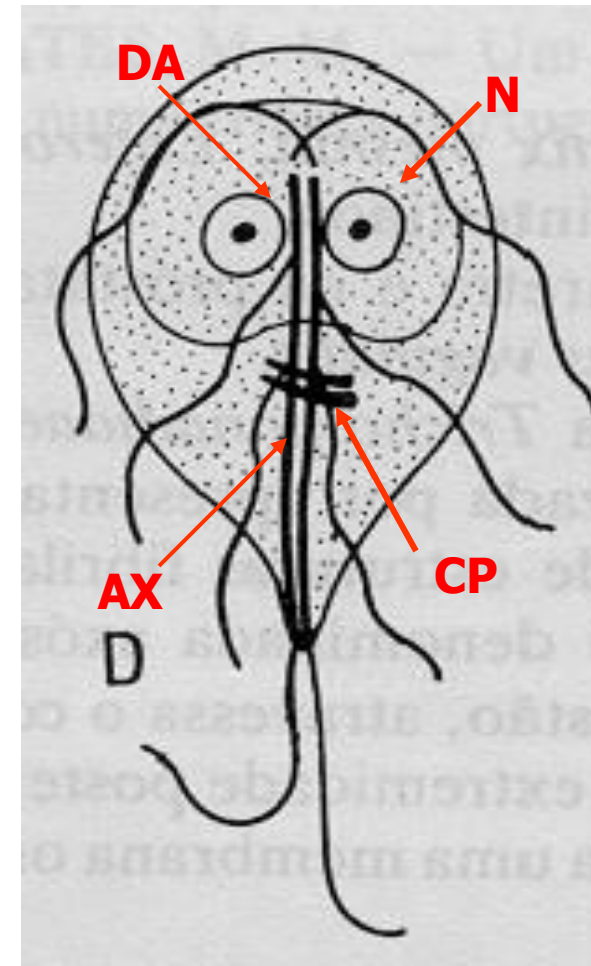
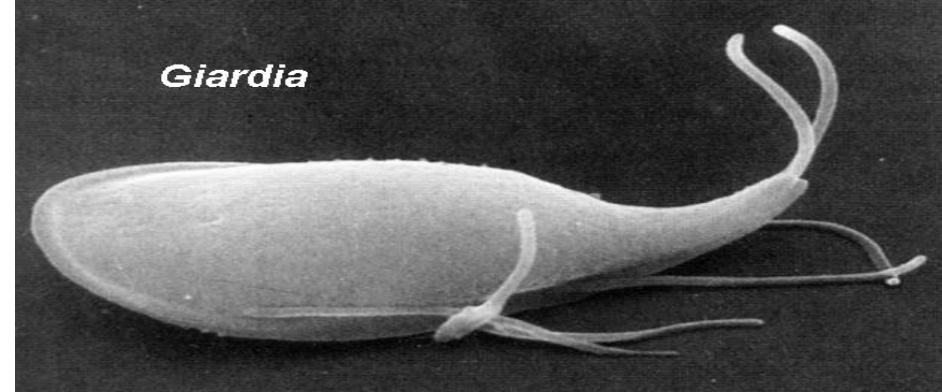
piriforme com simetria bilateral

achatamento dorsoventral

superfície ventral - disco adesivo **DA**

2 núcleos **N**, 2 axóstilos **AX**: feixes de fibras longitudinais, 2 corpos parabasais **CP** (Golgi)

4 pares de flagelos posteriores



Giardia duodenales

Trofozoítos

Habitat: duodeno e parte do jejuno
mergulhados nas criptas
aderidos mucosa - disco suctorial

Metabolismo: anaeróbio, aerotolerante
não tem mitocôndria

nutrição: via membrana e pinocitose

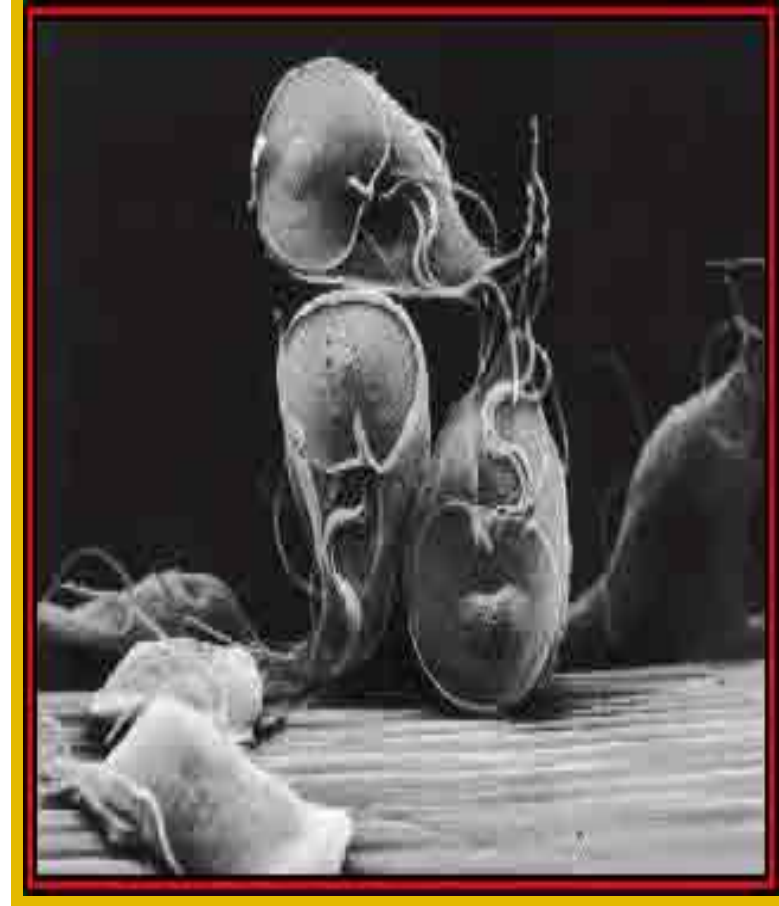
Metabolismo anaeróbico - carboidratos

Não tem hidrogenossomos - enzimas glicolíticas
citoplasmáticas

Deslocamento: batimento flagelar

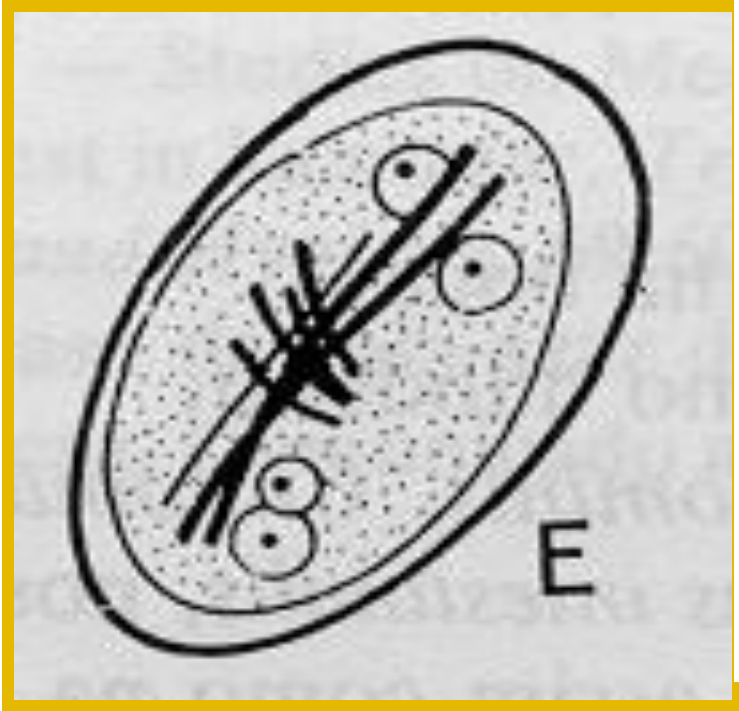
Reprodução: divisão binária longitudinal

Cultivável (meios líquidos e culturas de células)



Giardia duodenales

Formas de vida



Cistos

ovóides com parede cística (quitina)
4 núcleos (duplas estruturas internas)

Encistamento: colón

Desencistamento

passagem pelo estômago - eclosão
intestino delgado

1 cisto - 2 trofozoítas

Giardia duodenales

Mecanismos de infecção

1. Ingestão de cistos - eliminados fezes formadas
formas de resistência: água 2 meses

- água

- alimentos contaminados (água ou manipuladores)

2. Transmissão anal (sexual)

Trofozoítas - eliminados fezes diarréicas não são infectantes

Giardia duodenales

agente etiológico - giardíase

Epidemiologia

Cosmopolita

países desenvolvidos também tem!

mais comum climas temperados do que tropicais

OMS: 500 mil novos casos/ano

maior incidência em crianças

SP: 20-25%

BA: 2%

Giardíase

patologia e sintomatologia



Variável:

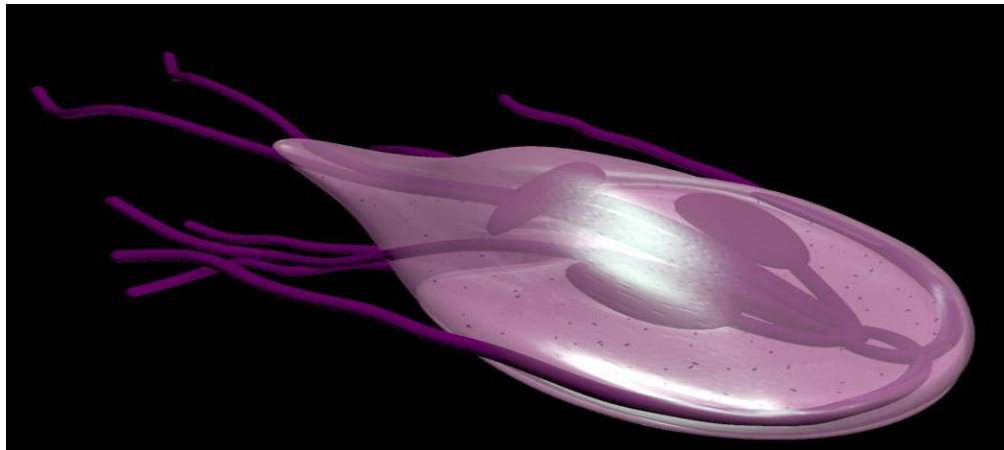
- Assintomática
- Sintomática: Diarréias brandas e auto-limitantes à diarréias crônicas e debilitantes

1. Aguda (até 2 meses), intermitente e auto-limitante
Dores abdominais (cólicas)
Diarréia (fezes pastosas ou líquidas: muco + gordura)
2. Crônica, má absorção intestinal e perda de peso
3. Crianças: diarréia crônica, dor abdominal, anorexia e perda de peso

Giardia duodenales

Mecanismos de Adesão

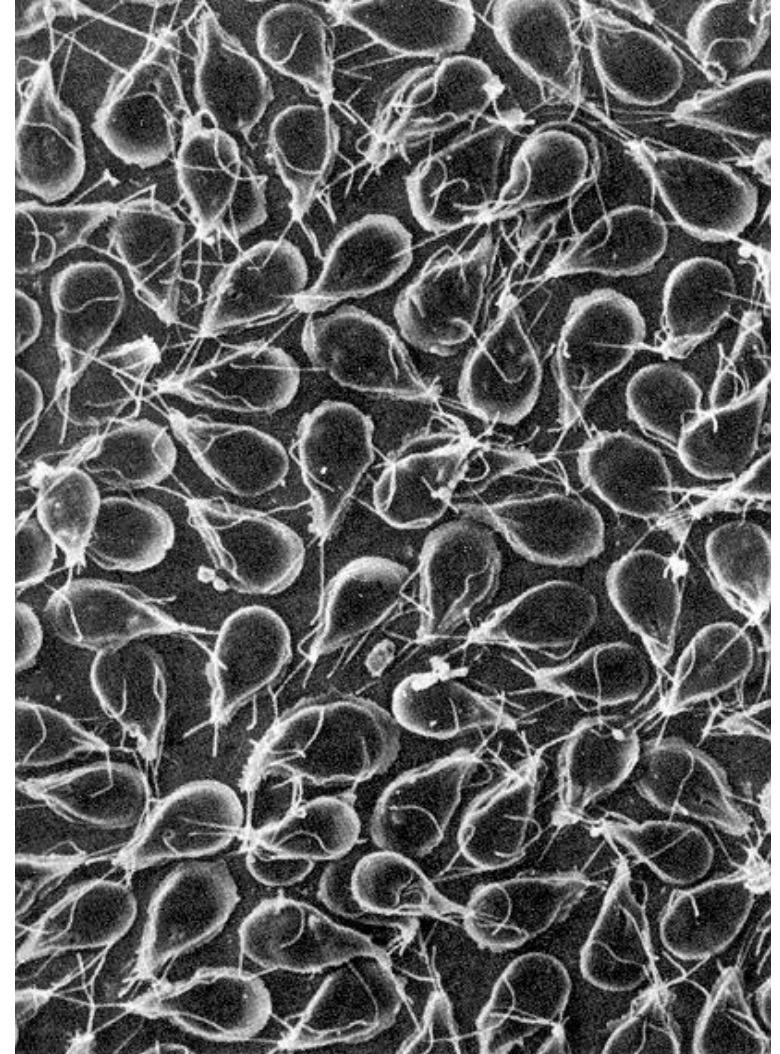
- **Múltiplos mecanismos**
- Ação hidrodinâmica: propulsão dos flagelos e a força de sucção do disco ventral - processo físico de adesão.
- Receptores: superfície do parasito
- Contração das proteínas do disco ventral



Giardia duodenales

Mecanismo de patogenicidade

- Não ocorre invasão da mucosa
- Processo principalmente mecânico parasitas aderem e recobrem a parede do duodeno "tapete" (impede absorção)
- Perda de microvilosidades quando o parasita descola diminui a absorção intestinal
- Diarréia "mecânica"
- Evidências toxina (CRP136)



Giardia duodenales

relação parasita-hospedeiro



Resposta do hospedeiro

Aguda - eosinófilos

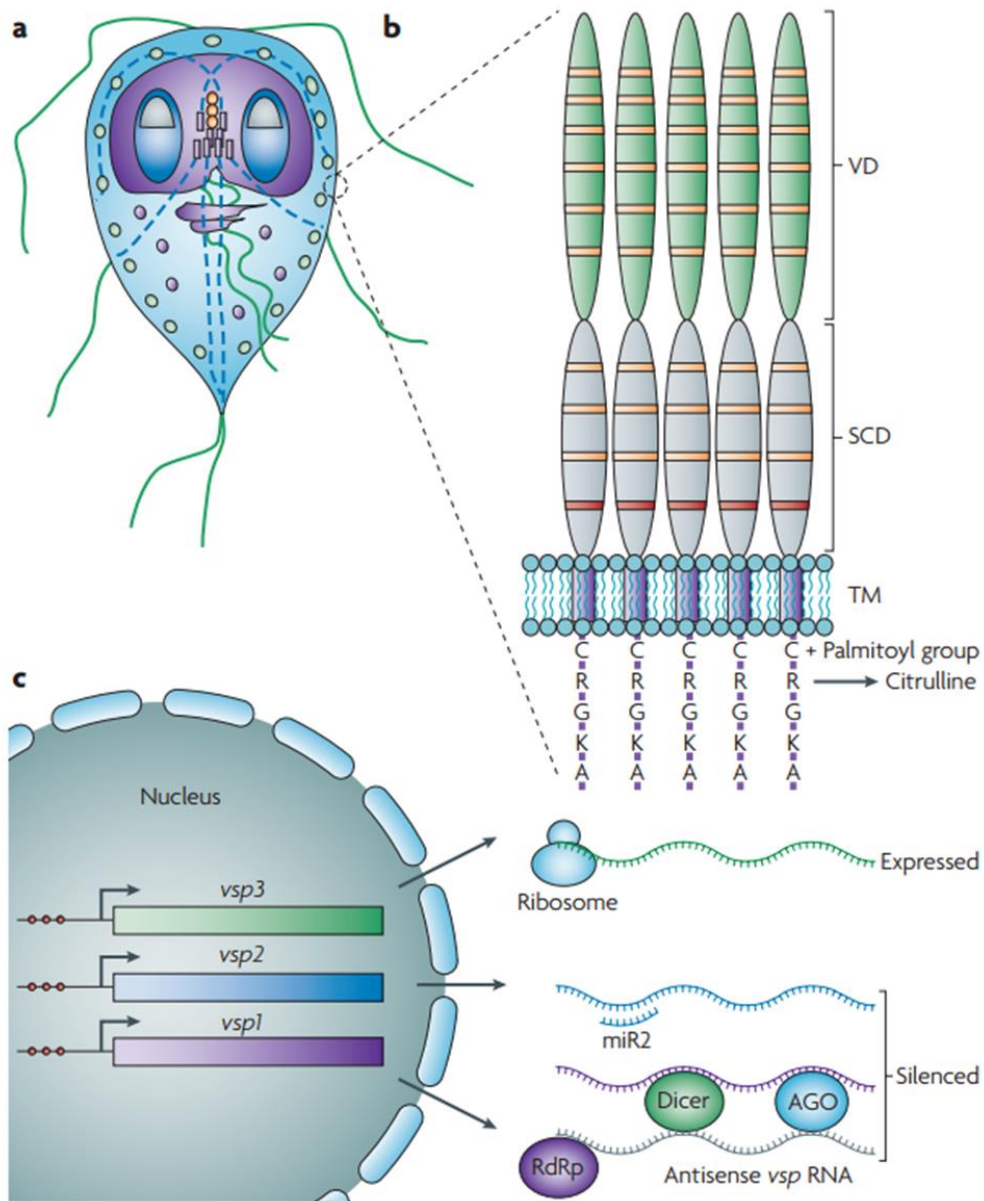
Crônica: inflamação - atrofia das microvilosidades

Mecanismos de Escape

Variação antigênica -VSPs- antígenos de superfície

Evasão do sistema imune

Sobrevivência em diferentes condições intestinais



Antigenic variation in *Giardia* spp. **a** | The giardial trophozoite. **b** | Variantspecific surface proteins (VSPs) cover the whole surface of the trophozoite, producing a dense coat. Normally, only one type of VSP is found on the trophozoite surface, except during differentiation and during the switching that occurs every 6–13 generations. In a population of parasites, one VSP usually dominates, but a few parasites express other VSPs. VSPs vary in size from 20 to 200 kDa, and the cysteine content is around 11–12%, most of which is found in numerous CXXC motifs (orange boxes) that build up disulphide bonds. The most variable portion of VSPs is the amino terminus (labelled as the variable domain (VD)), and this portion seems to be at the interface between the parasite and its environment. The extracellular domain closest to the membrane is a semi-conserved domain (SCD) and contains one or two GGCY motifs (red boxes). All VSPs have a conserved, cytoplasmic carboxyl terminus with a hydrophobic tail that ends in the five hydrophilic amino acids CRGKA. The CRGKA motif can be modified by palmitoylation of the cysteine residue and by citrullination of the arginine residue.

c | The level of histone modification (red circles) in the promoters of the vsp genes affects vsp transcription. vsp mRNAs can also be post-transcriptionally processed by the RNA interference machinery (including RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), Dicer and Argonaute (AGO)) and microRNAs (such as miR2)

Table 1 | **The major virulence factors of *Giardia* spp.**

Function	Virulence factor
Attachment	The ventral adhesive disc and surface lectins enable attachment to and colonization of the intestinal endothelium
Circumvention of the natural factors of the intestinal lumen	Flagellar motility enables re-localization to new endothelial cells during colonization, and VSPs potentially help to protect against luminal proteases, oxygen and free radicals
Antigenic variation	VSP on the trophozoite surface switches to avoid IgA-directed clearance
Alteration of host innate defences	Released arginine deiminase and other <i>Giardia</i> spp. products downregulate epithelial production of nitric oxide
Anti-inflammatory modifications	Unknown trophozoite products have anti-inflammatory roles
Survival in stomach acid and the external environment	Differentiation into cysts

IgA, immunoglobulin A; VSP, variant-specific surface protein.

Giardia duodenales

Diagnóstico

Parasitológico de fezes

cistos em fezes sólidas

trofozoítas em fezes líquidas ou aspirado de duodeno

pode requerer exames repetidos (3 amostras)

Imunológico

ELISA - pesquisa de Ags nas fezes

Giardia duodenales

Profilaxia

Saneamento básico (água) - Cloro utilizado H₂O não é suficiente

Higiene - creches, asilos

Cuidados com alimentos

Tratamento dos doentes

Tratamento dos portadores assintomáticos - muito importante

Animais domésticos (cães e gatos) podem ser reservatórios

Vacinas veterinárias - cães e gatos

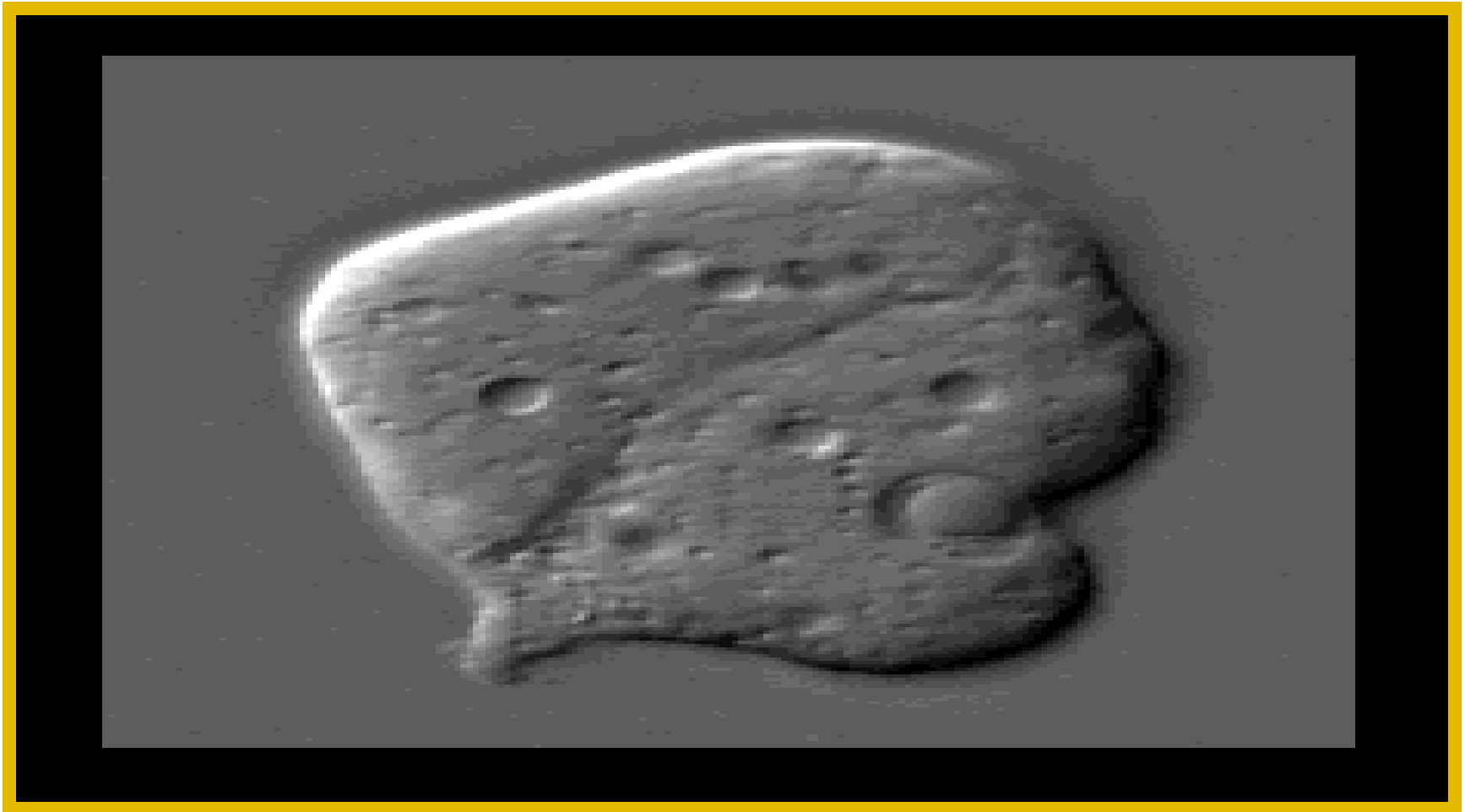
Tratamento

Derivados Nitroimidazólicos - Metronidazol

- Resistência

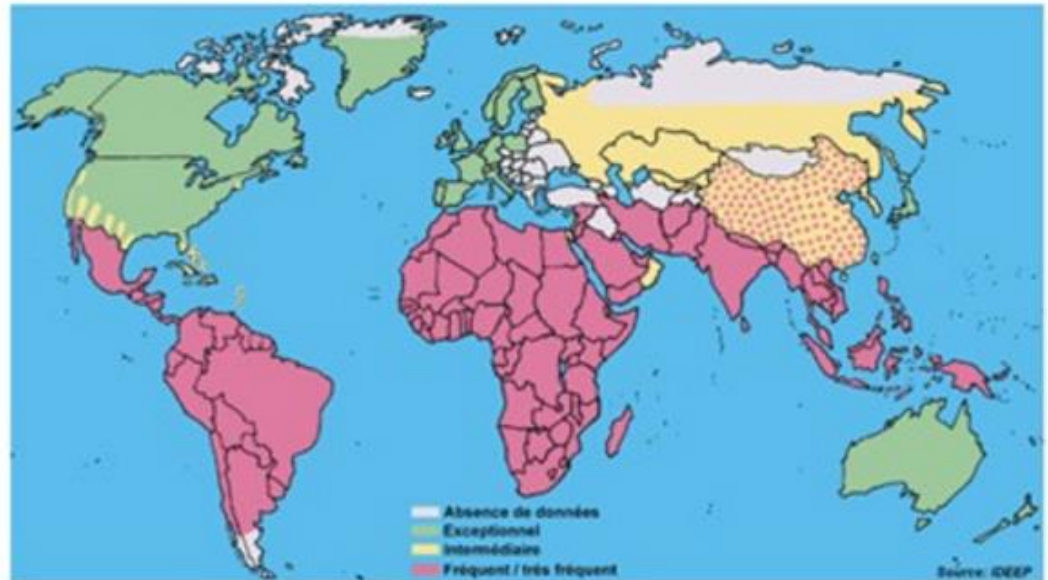
Amebíase

Entamoeba histolytica



Entameoba histolytica

- Anaerobic parasitic protozoan
- Estimated to infect 50 million people worldwide
- 40,000 to 100,000 people worldwide die annually
- 90% asymptomatic



Amebas

Subphylum Sarcodina
Ordem Amoebida
Família Endamoebidae
Gênero *Entamoeba*



E. histolytica

E. coli

E. dispar

E. hartmanni

E. gingivalis

Intestino

- Cavidade bucal

patogênica

Amebas

Protozoários com inúmeros habitats:

Vida livre



Vários gêneros e espécies

Parasitas



Entamoeba histolytica

Comensais



Entamoeba coli, *E. dispar*, *E. hartmanni*, *E. gengivalis*,
Endolimax nana, *Iodamoeba bütschlii*

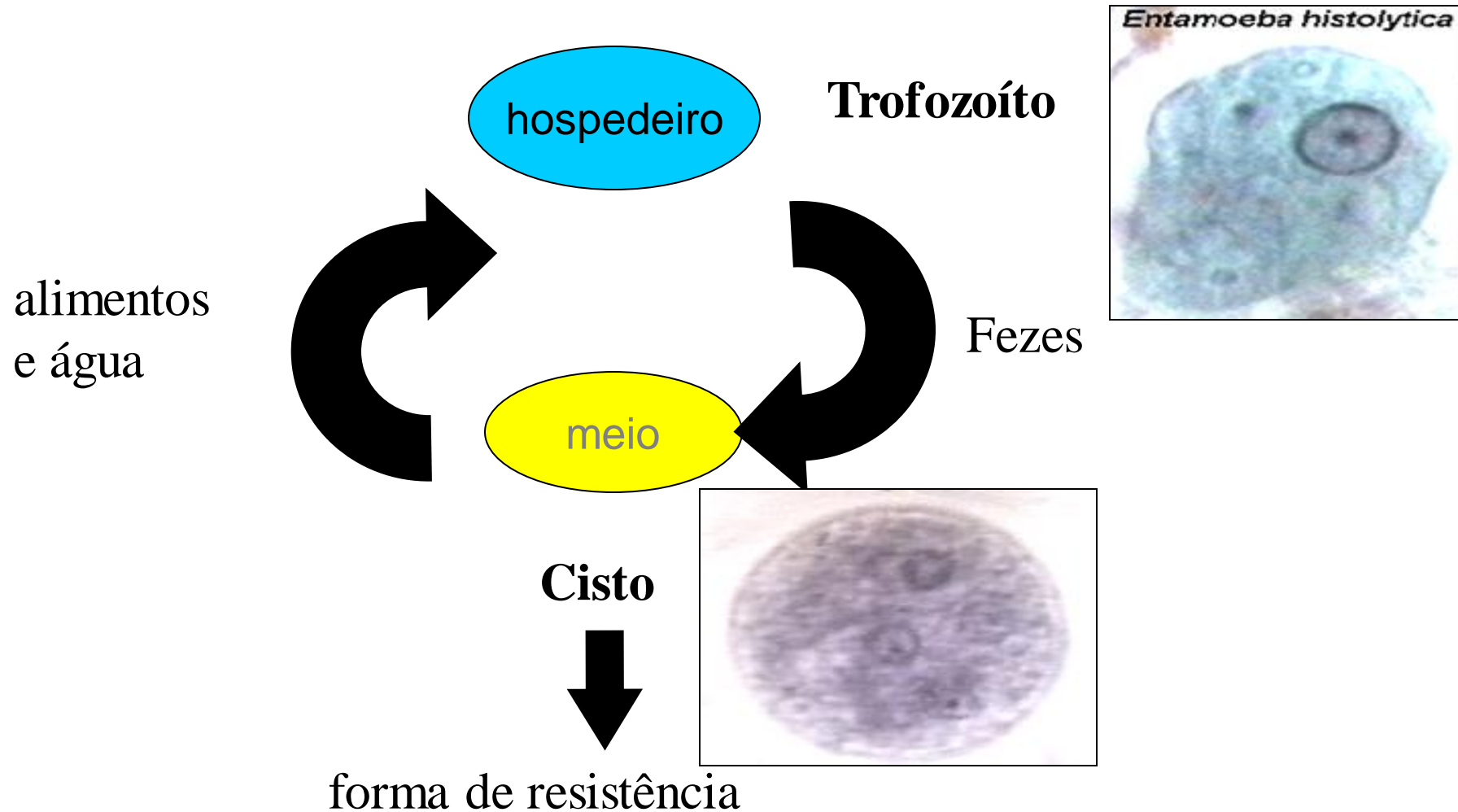
Vida livre
eventualmente
parasitas



Acanthamoeba, *Naegleria*

Amebas intestinais

Ciclo de vida: trofozoíto e cisto



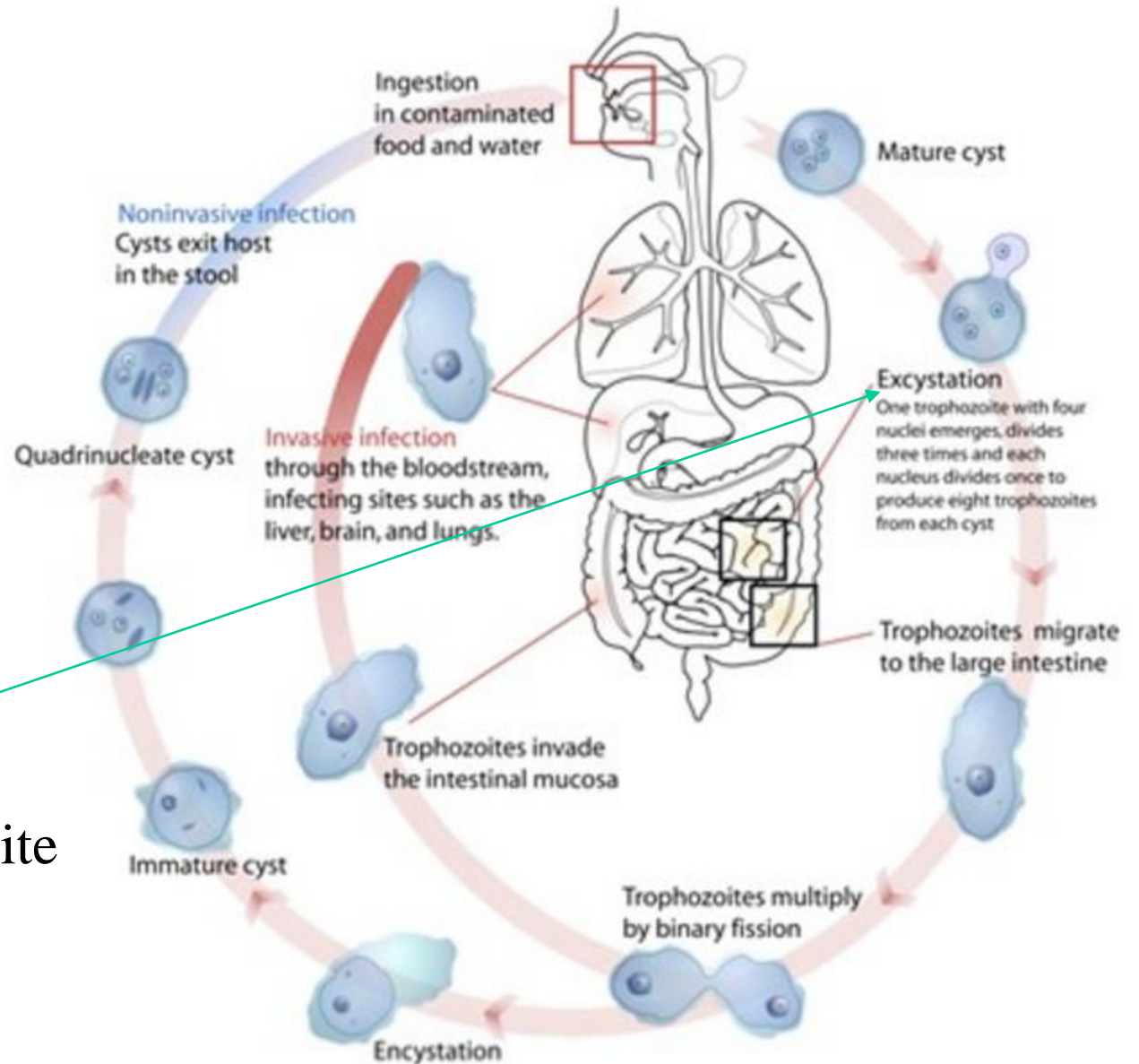
Entameoba histolytica

- Life cycle
- Fecal/oral route
- Anal/oral route

Non-invasive infection 90%

Invasive infection 10%

Each cyst produces 8 trophozoite



Entameoba histolytica

- *histo-lytic* = tissue destroying
- Ameobiasis
- Symptoms take from a few days to a few weeks to develop and manifest themselves
 - Mild diarrhea to dysentery with blood and mucus (lining of intestine)
 - About 10% of invasive cases the amoebae enter the bloodstream
 - May travel to other organs in the body (liver)

E. histolytica

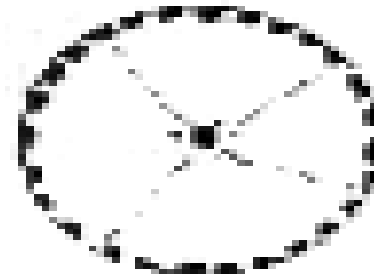
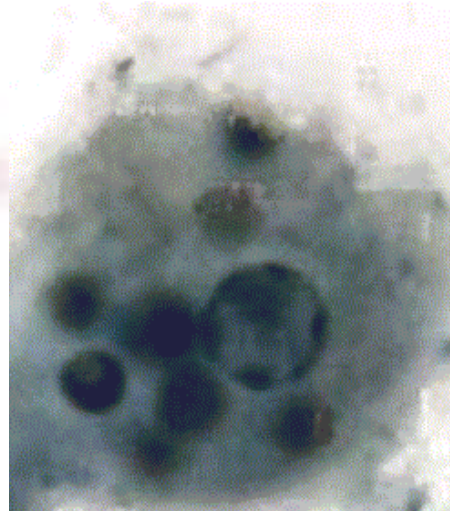
trofozoítos

1 núcleo, pleomórficos

citoplasma: ecto e endoplasma

multiplicação: divisão binária simples - trofozoítos

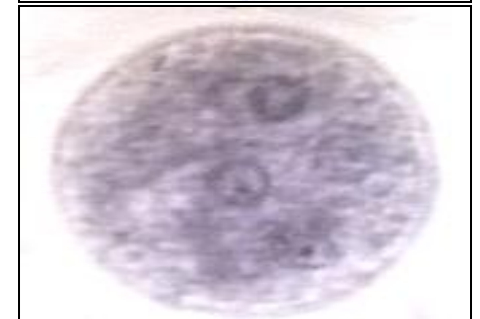
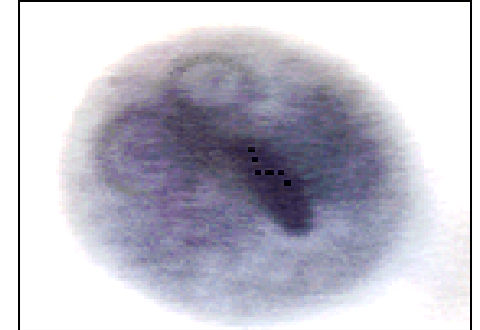
divisão múltipla núcleos - cistos



núcleo

cistos

1-4 núcleos
esféricos/ovais



E. histolytica

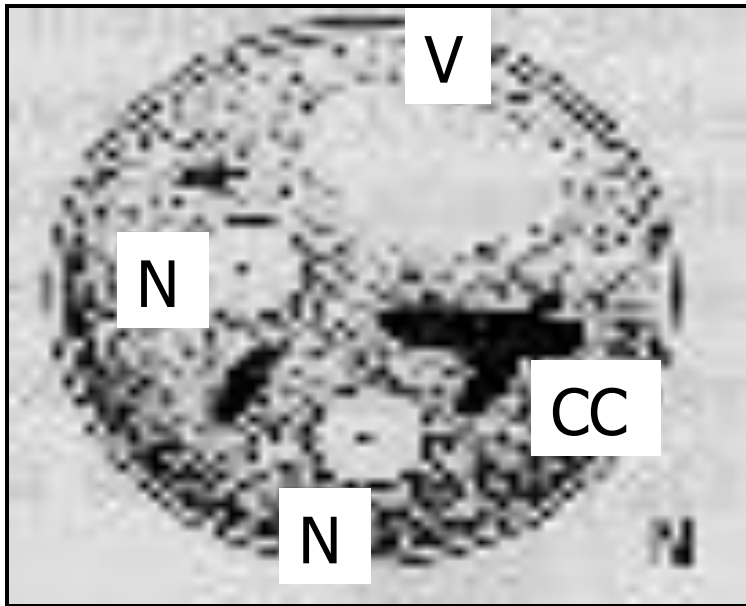
Cistos

formas de resistência eliminada com as fezes

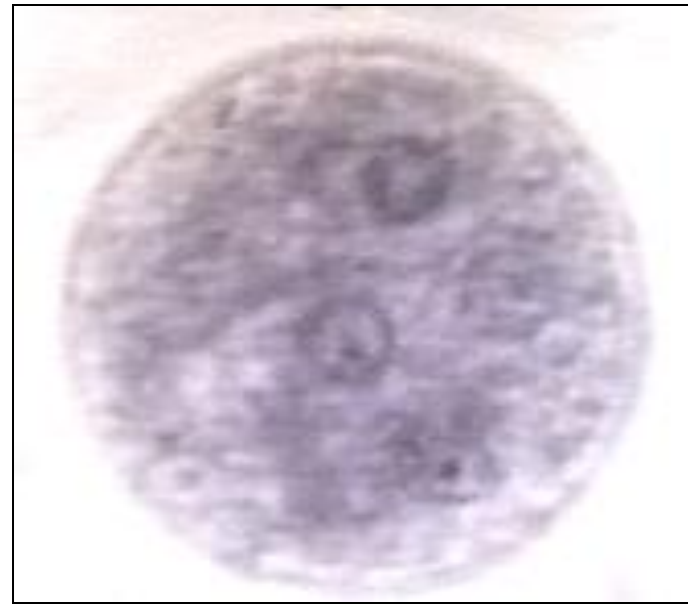
Membrana plasmática + parede cística (quitina)

1-4 núcleos (N) (divisão endomitose)

Vacúolos de glicogênio (V), Corpos cromatóides (CC) – agregados de ribossomos



Cisto jovem



cisto maduro

E. histolytica

Trofozoíto

Ingestão: membrana/pinocitose/fagocitose:
bactérias/hemáceas (forma invasiva)

Forma: pleomórfico, grande variabilidade
de formas e tamanhos

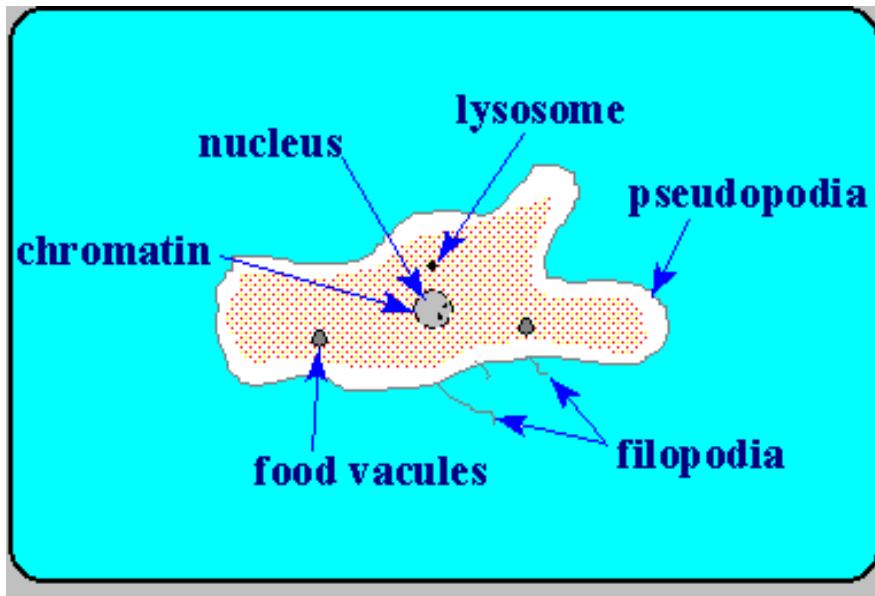
Motilidade: pseudópodes

Correntes protoplásmicas



Amebas

Eucariotos primitivos, não tem: **Mitocôndria, Aparelho de Golgi, Microtúbulos**



Metabolismo

microaerófilo

aeróbico facultativo-

principal fonte energética: glicose

vacúolos de glicogênio - estoque

E. histolytica

Mecanismo de transmissão

Ingestão de cistos

Direta: pessoa-pessoa

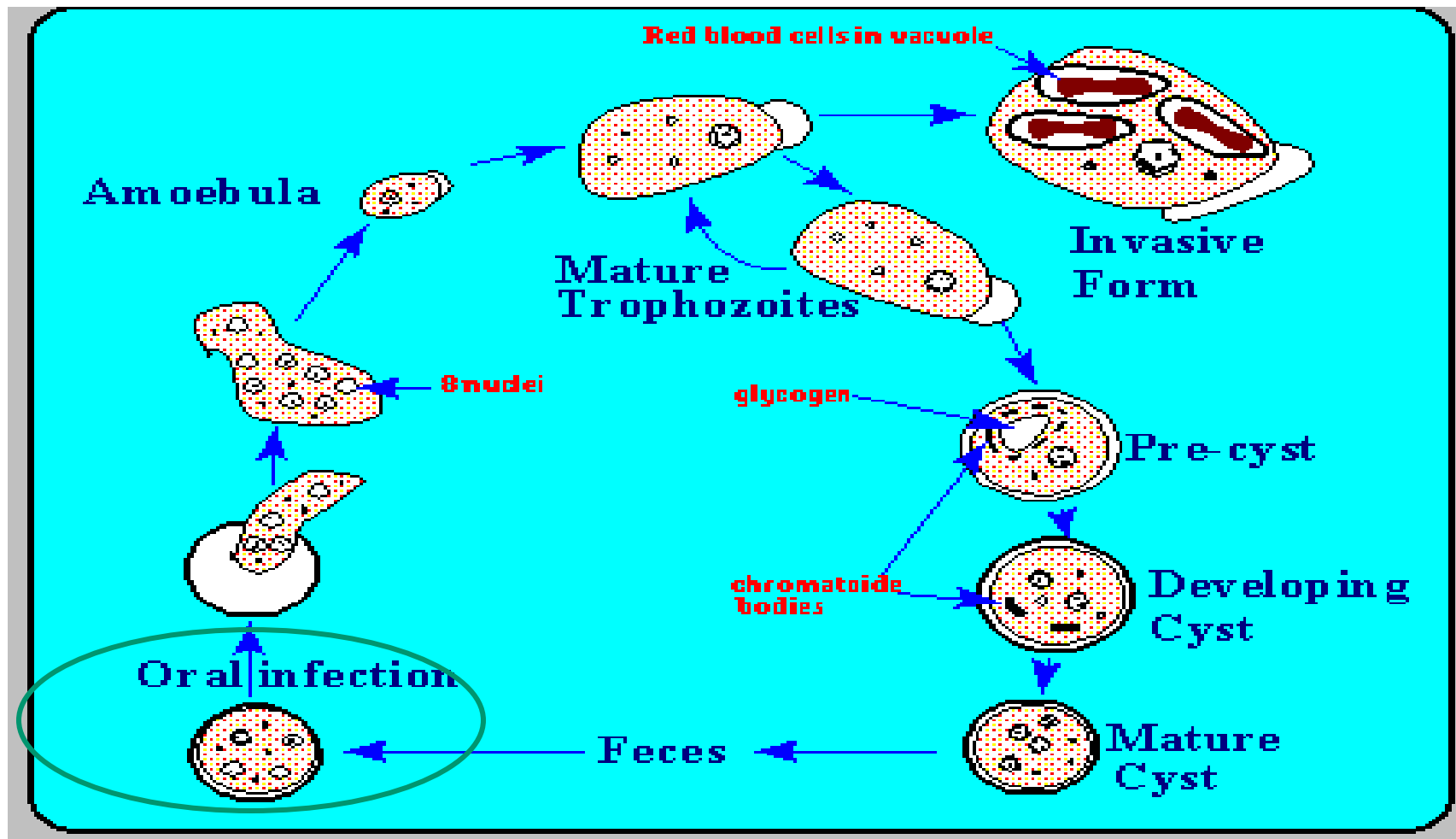
Indireta: água ou alimentos contaminados

Cistos são viáveis por até ~ 30 dias no meio externo

Trofozoítas - destruídos no estômago

E. histolytica

Ciclo de vida



E. histolytica

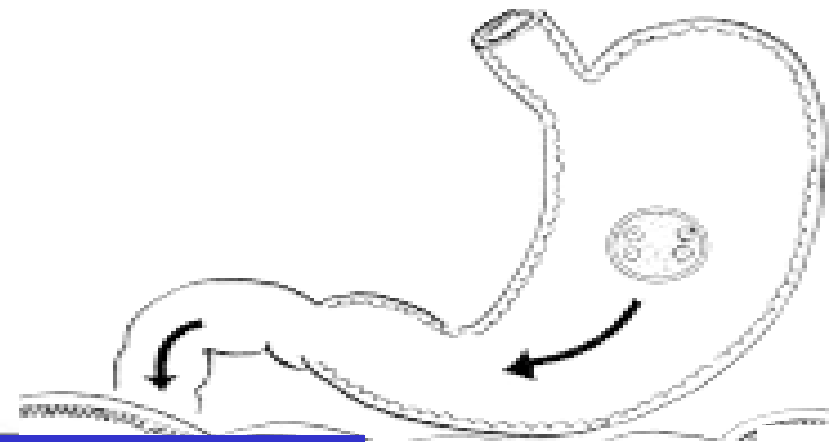
Desencistamento

Cistos - passam pelo estômago
quitina resiste pH ácido e enzimas
desencistamento – intestino delgado - 37°C e anaerobiose

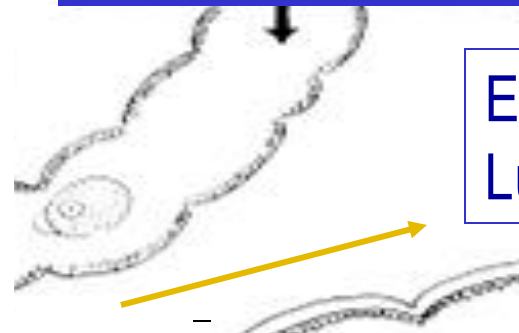
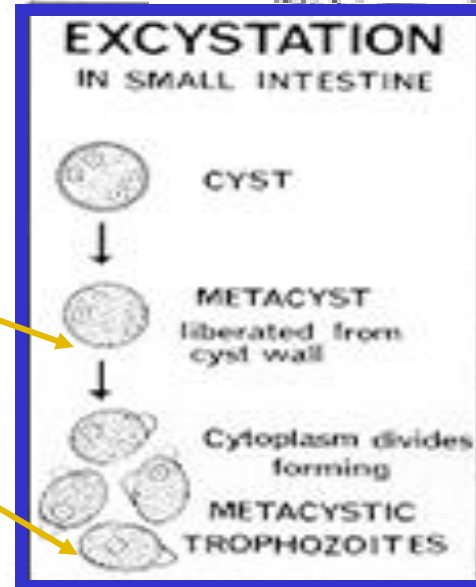
3-6hs eclosão - membrana cisto íntegra

-1 ameba com 4 núcleos - divisão núcleos e citoplasma - 8 amebas que se alimentam e crescem - trofozoítos

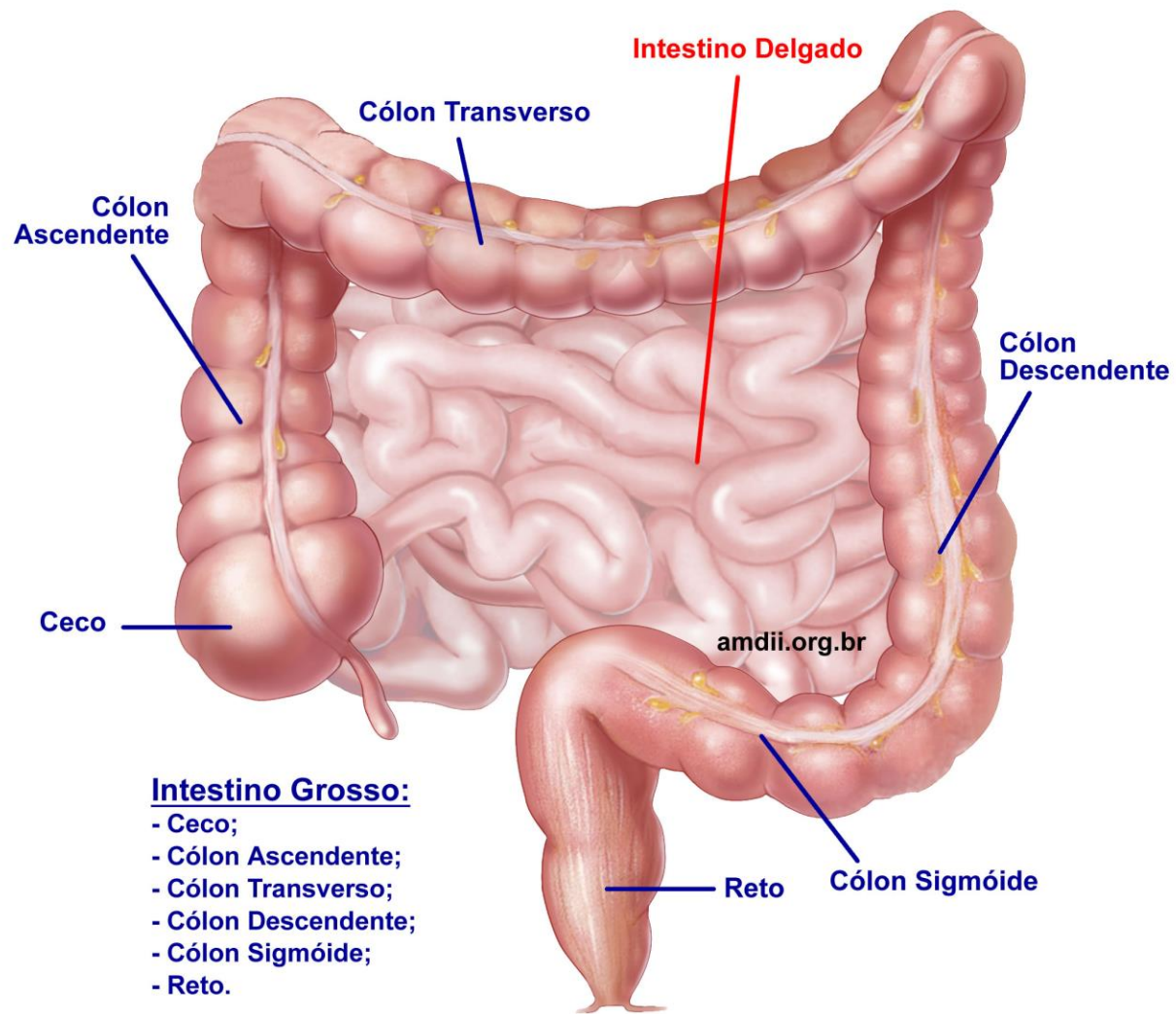
Habitat trofozoíto
- luz intestino grosso



estômago



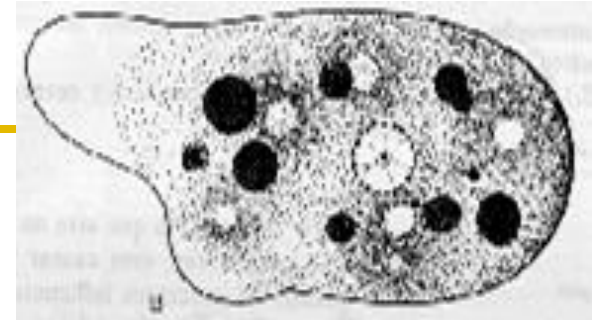
Encistamento
Luz intestino grosso



E. histolytica

Amebíase- Formas clínicas

- Forma assintomática
- Forma intestinal (não invasiva)
 - dores abdominais (cólicas)
 - diarreia fezes moles
- Forma intestinal invasiva
 - colite amebiana aguda, desintéria grave (fezes líquidas com muco e sangue)
 - úlceras intestinais, abscessos
 - pode ser grave e até fatal (grávidas e imunodeprimidos)
- Forma extra-intestinal
 - peritonites (raras)
 - fígado (+ comum), pulmão, cérebro, pele

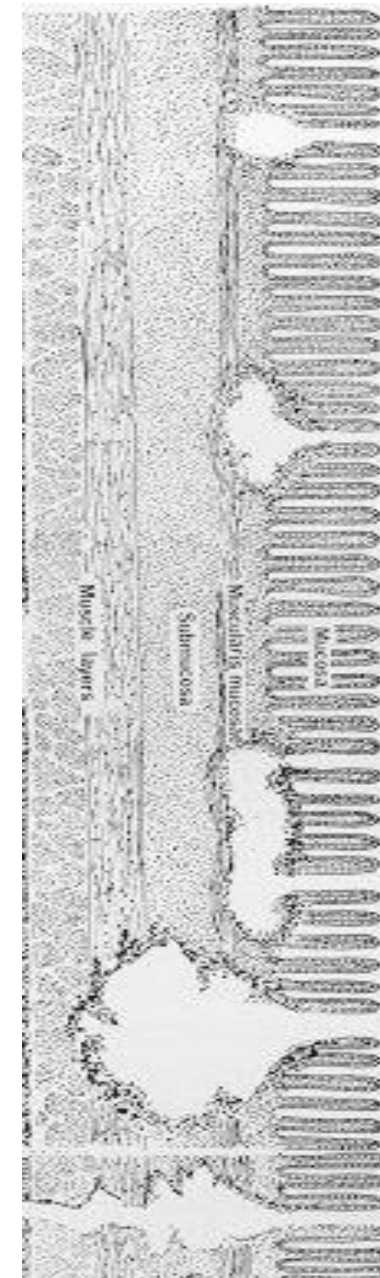
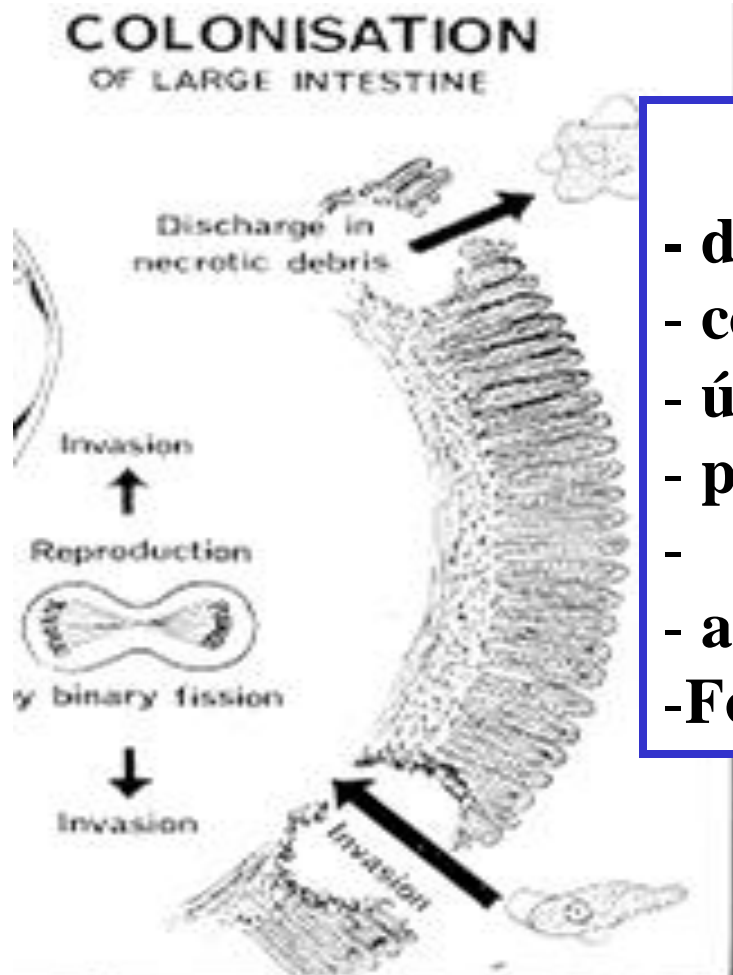


E. histolytica

amebíase intestinal

- diarreias
- colite amebiana
- úlceras
- perfurações - peritonite
- - apendicite
- amebomas
- Forma aguda fulminante

Forma intestinal invasiva



E. histolytica

Patogenia

**amebíase intestinal
geralmente não patogênica**



Forma invasiva

Facilitada por lesões

Invade mucosas íntegras!

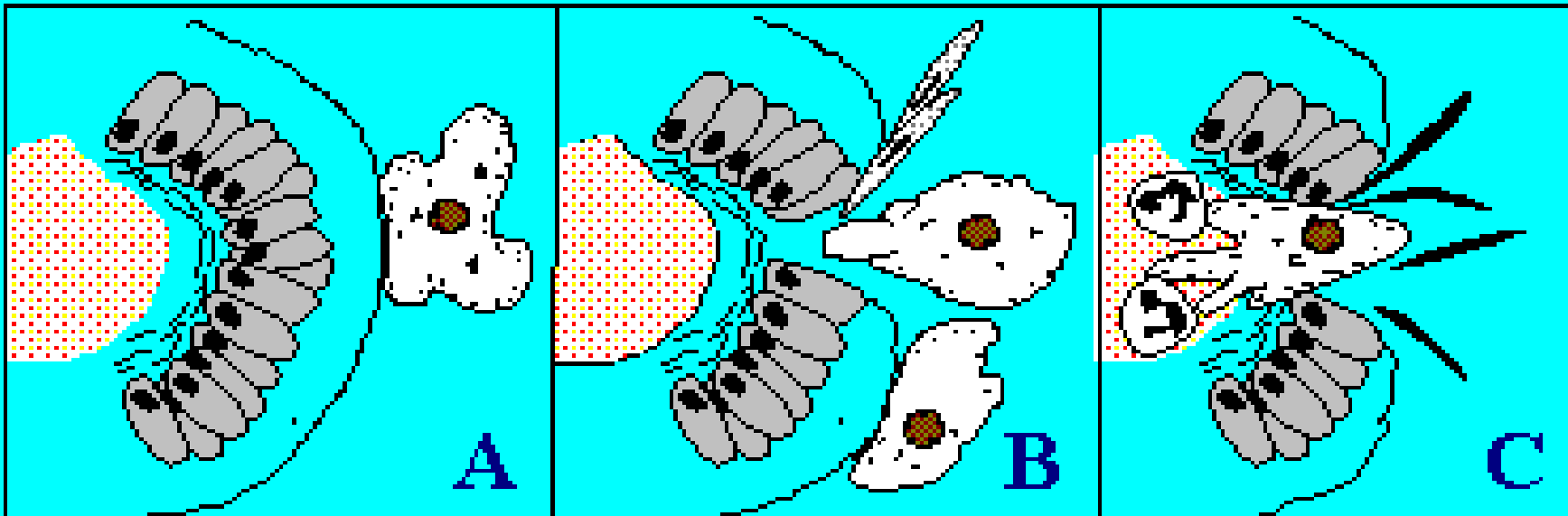
E. histolytica

Mecanismos de invasão

Adesão

Destruição tecidual

Dispersão



E. histolytica

Mecanismo de invasão

1. Adesão parasita via receptores específicos de células do epitélio intestinal
adesinas (glicoproteínas) - receptores para fibronectina e laminina
2. Processo de destruição tecidual (nome - *histolytica*)
ação de enzimas (hialuronidase/proteases/mucopolissacaridasas)
citopatogenicidade - formação de úlcera
3. Dispersão: o trofozoíta cai na circulação e atinge o fígado via sistema porta
(filopódios, fagocitose)
4. “capping” e “shedding” de proteínas (importantes na evasão)
“turnover” contínuo de membrana plasmática

E. histolytica

Fatores líticos

1. mecanismos dependentes de contato

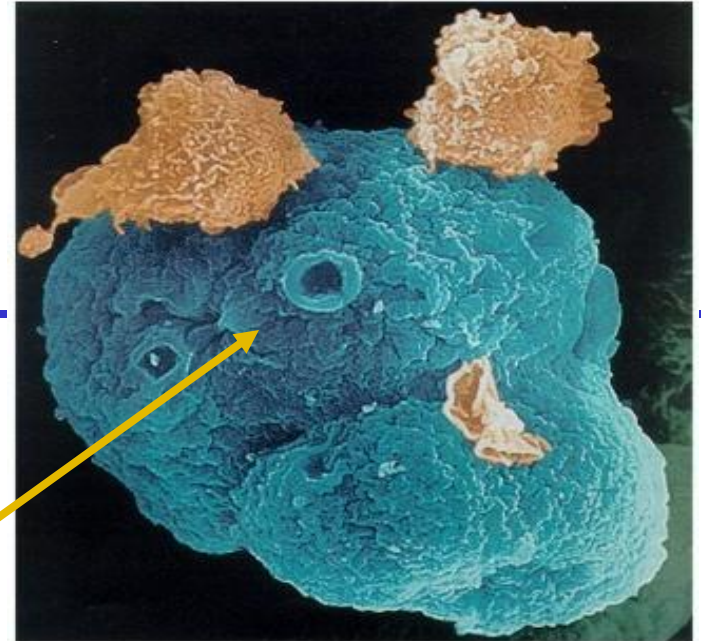
- liberação peptídeos ativos - “amebapores”
- atividade citolítica

2. mecanismos independentes de contato

- liberação de colagenase e cisteíno-proteases
- degradação matriz extra-celular

3. Neutrófilos

- atraídos pelas amebas e por elas lisados liberando suas enzimas



***E. histolytica*: relação parasita-hospedeiro**

Mecanismos de defesa do hospedeiro

1. camada mucosa - mucinas: gel aderente, previne adesão às células epiteliais e facilita a eliminação do parasita.
2. resposta Imune (IgA, IgE, IgG – imunidade celular?)

Fatores de Virulência do parasita

1. Capacidade de matar e fagocitar células do hospedeiro
2. Indução de morte de células do hospedeiro por apoptose (limita a inflamação e facilita a evasão da resposta imune)
3. Moléculas de adesão
4. Fatores líticos
5. eritrofagocitose

E. histolytica

Patologia

Amebíase

Forma extra-intestinal

Trofozoíto
intestino

Invasão

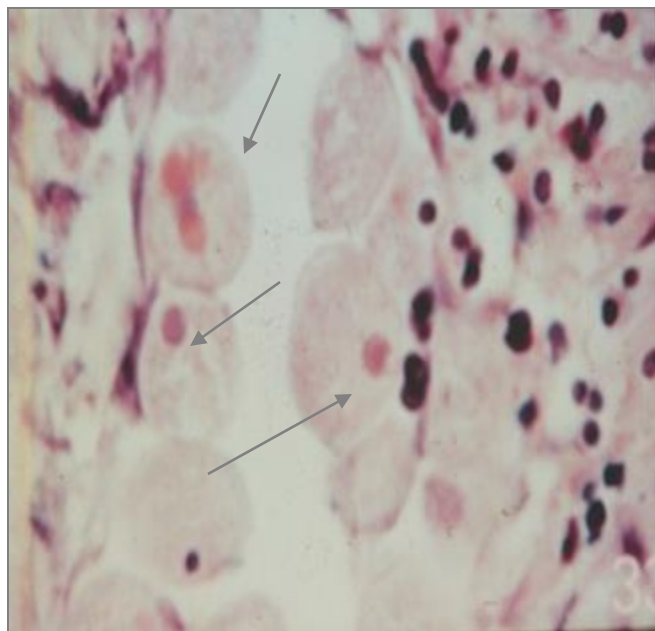
Desenvolvimento de quadros
hepáticos, com abscessos no
fígado que podem levar à morte
do hospedeiro



Fígado

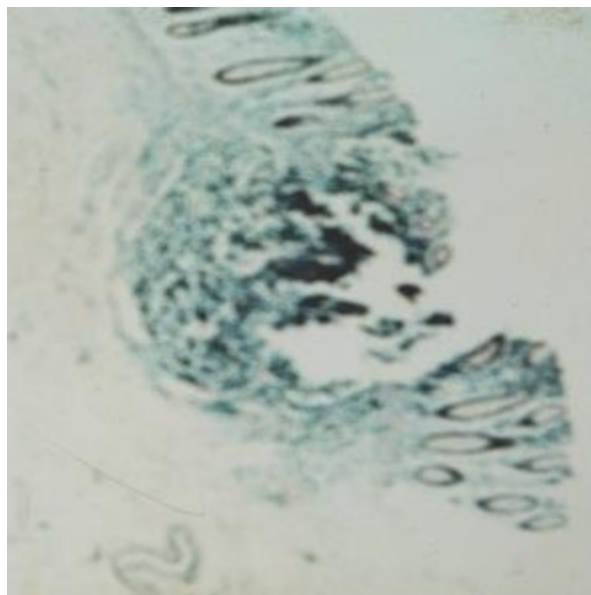
E. histolytica

Amebíase - Patologia

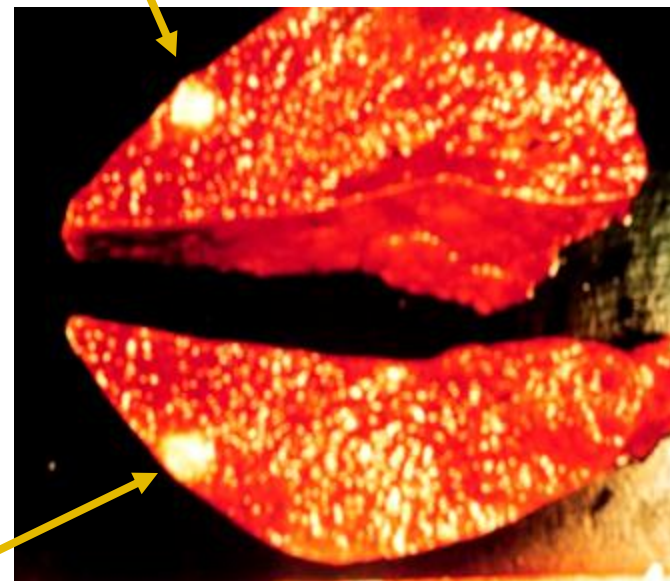


Adesão

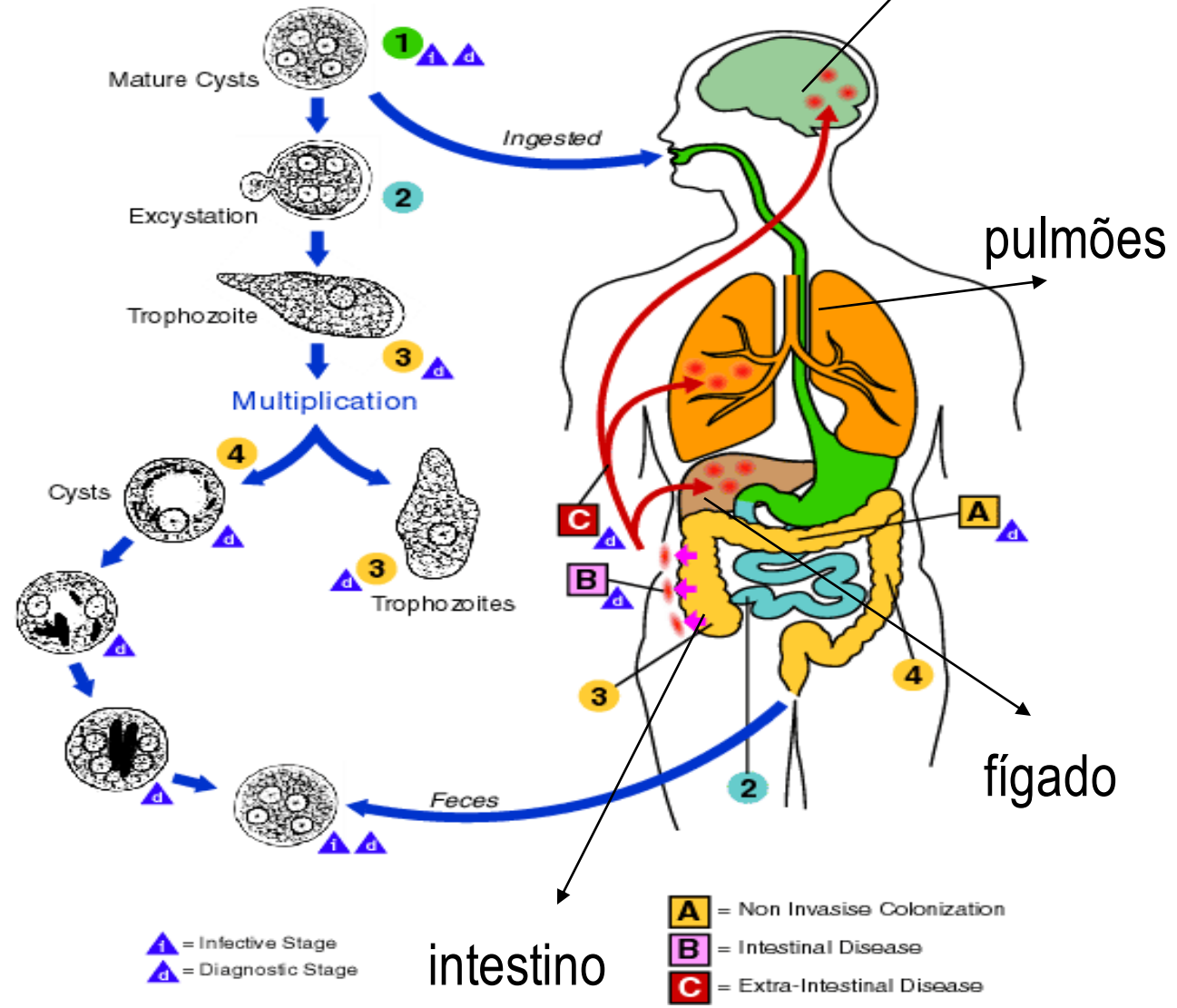
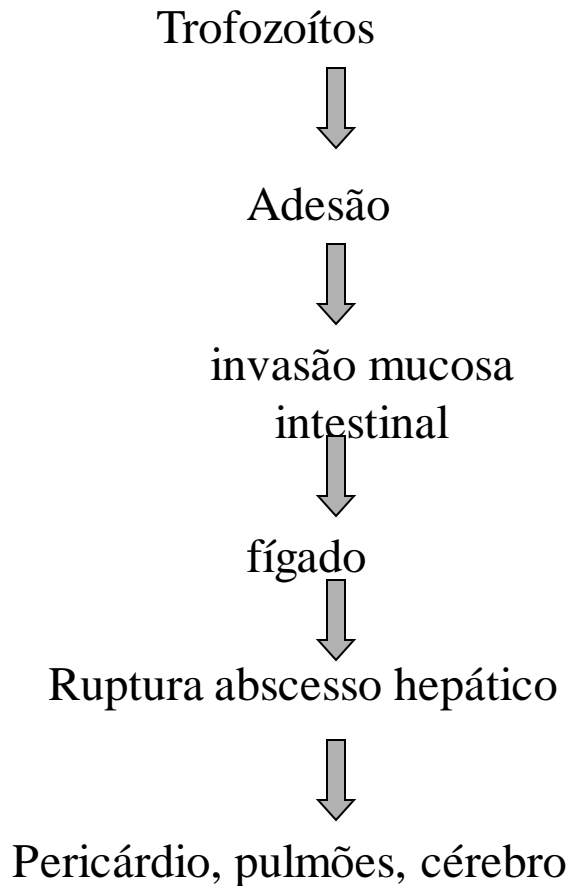
Úlcera



**Abscesso
Fígado**
Geralmente único
Pus chocolate



Patogenia



Amebíase: E. histolytica

Diagnóstico

Clínico – diarréias/síndrome do cólon irritável

Amebomas, abscessos

Parasitológico de fezes

Pesquisa de cistos em fezes sólidas (diferenciar amebas não patogênicas)

trofozoítas em fezes líquidas

Cultura de fezes

Diagnóstico imunológico

-ELISA para detecção de antígeno nas fezes

-ELISA para detecção Acs IgG soro - amebíase invasiva

Diagnóstico Molecular

- PCR (distingue espécies)

Amebíase: E. histolytica

Diagnóstico

Diagnóstico diferencial amebas não patogênicas

Morfológico

E. histolytica x *E. coli* e outras comensais

Sorológico e Molecular

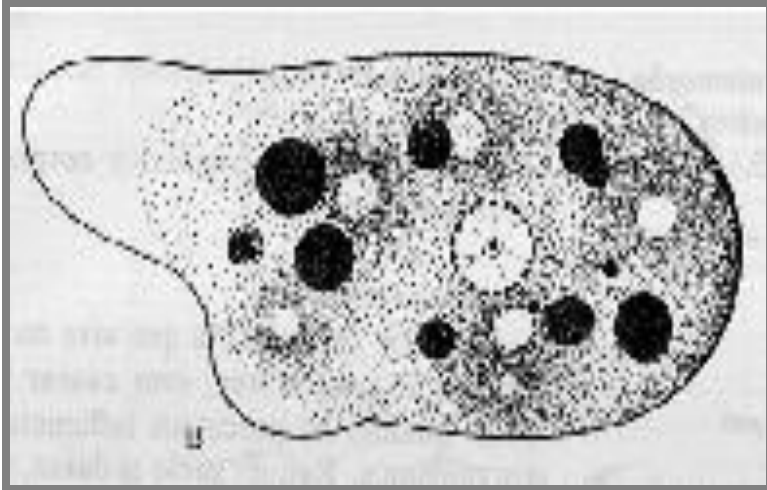
E. histolytica x *E. dispar*

Differential diagnosis of *Entamoebas*

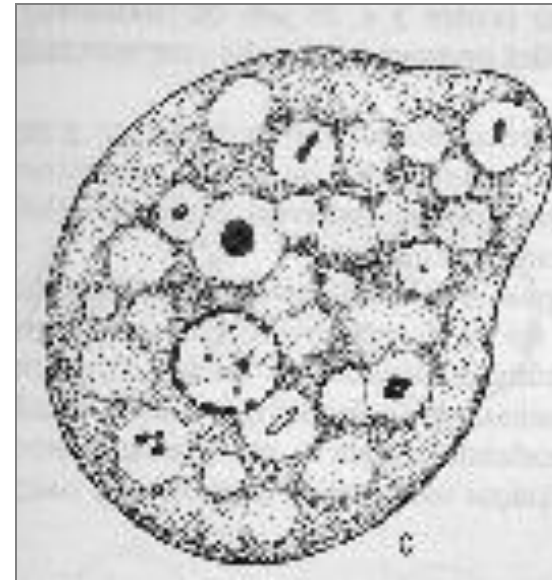
- Several factors have conspired to make diagnosis of *E. histolytica* infection difficult, including the occurrence of asymptomatic carriers and the existence of a morphologically identical, nonpathogenic amoeba, *Entamoeba dispar*, originally described in 1925 by Emile Brumpt.
- The verification of this distinct, non-pathogenic species was not possible until the development of molecular techniques in the early 1970s, which demonstrated different lectin agglutination patterns between pathogenic and non-pathogenic species.
- Subsequent isoenzyme patterning from cultured *Entamoeba* spp, gene sequence analyses and the development of monoclonal antibodies specific for *E. dispar* have supported the original distinction by Brumpt.
- PCR-based detection and isoenzyme analysis from amoeba cultured from stool samples have proved very sensitive and reliable but may be technically prohibitive in the settings in which *E. histolytica* infection is normally found.
- Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) that recognise an important cell-surface adhesin of *E. histolytica*, the galactose/N-acetyl-Dgalactosamine (Gal/GalNAc)-inhibitible lectin, are currently the most convenient tests to be employed.

E. histolytica X *E. coli*
Diagnóstico diferencial

Morfologia - trofozoítas



Entamoeba histolytica



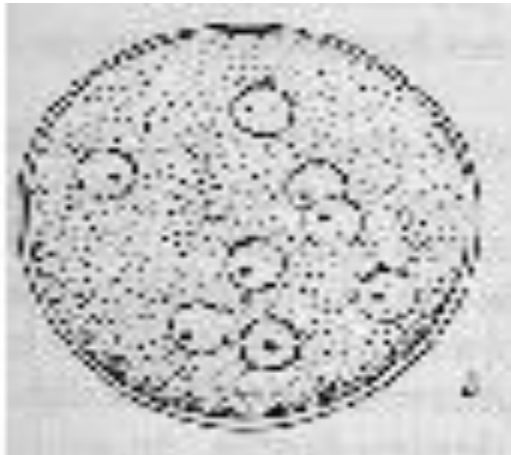
Entamoeba coli

E. histolytica X *E. coli*
Diagnóstico diferencial

Morfologia (cistos)



Entamoeba histolytica



Entamoeba coli



E. histolytica X *E. dispar*
Diagnóstico diferencial

Variabilidade da patogenia X origem geográfica

Dilema durante + de 50 anos:

Uma só espécie?

Conversão não patogênica em patogênica?

Duas espécies morfologicamente indistinguíveis?

**Marcadores genotípicos confirmaram
que são 2 espécies**

E. histolytica X *E. dispar*

E. histolytica: espécie patogênica (nem sempre)
potencial invasivo

virulência dependente - cepa
- resposta do hospedeiro

menos freqüente

E. dispar: espécie não patogênica - raramente causa erosão de
mucosa

10X mais freqüente
portadores assintomáticos

AMEBÍASE: Epidemiologia

Cosmopolita- de acordo com a região de 5 a 50% pessoas infectadas

500 milhões de infectados, 10% com formas invasivas

óbito anual 100.000 pessoas - regiões tropicais/subtropicais

- condições precárias de higiene

- estado nutricional deficiente

África e Ásia – mais atingidos

Regiões frias e temperadas – ausente (cistos nas fezes – *E. dispar*?)

Américas: México, América Central, Perú, Colômbia, Equador

Brasil: Até 30% (AM, PA, BA, PB, RS)



E. histolytica

Tratamento

1. Amebíase intestinal – Dicloracetamidas
ação somente sobre trofozoítas
2. Amebíase teciduais – nitroimidazóis e deidroemetina
mais usado - Metronidazol

Entameoba histolytica

- What is most important about Entameoba histolytica?



E. histolytica

Profilaxia e Controle

1. Saneamento básico
2. Educação sanitária:
3. Tratamento de água
4. Controle de alimentos (lavar frutas e verduras).
5. Tratamento das fontes de infecção
6. Cuidados com higiene pessoal (lavar as mãos).

Portadores assintomáticos!

Não existem reservatórios animais além do homem

Vacinas (experimentais):

alvos – trofozoítas (via oral)

- cistos (impedir encistamento)

Entamoeba histolytica summary

- Entamoeba histolytica is the causative agent of **amoebic dysentery**.
- It is prevalent in **developing countries**.
- It has **fecal–oral spread** and ranks second in worldwide causes of morbidity by parasitic infection.
- Improvements in sanitation would help curb disease spread.
- There is a need for a **better understanding of the molecular and cellular biology of pathogenesis** in order to design novel methods of disease treatment and prevention.
- Recent insight into the cellular mechanisms regulating virulence of E. histolytica has indicated that processes such as **endocytosis, secretion, host cell adhesion and encystation** play major roles in the infectious process.

Table 1. Factors proposed to regulate endocytic pathways in *Entamoeba histolytica*^a

Factor	Pinocytosis ^b	Phagocytosis ^c
EhRabB	?	+
EhRab5	-	+
EhRab7 family	+	+
EhRacA	-	+
EhPAK	?	+
Actin	+	+
Myosin 1B	-	+
Phosphatidylinositol-3 kinase	+	+
Protein kinase C	?	+
Lipid rafts	+	?
Amoebapore A	?	+
Cysteine protease (CPs) 1, 2, 112	?	+
L220	?	+
Hgl, Lgl, Igl subunits of the Gal/GalNAc-inhibitable lectin	?	+

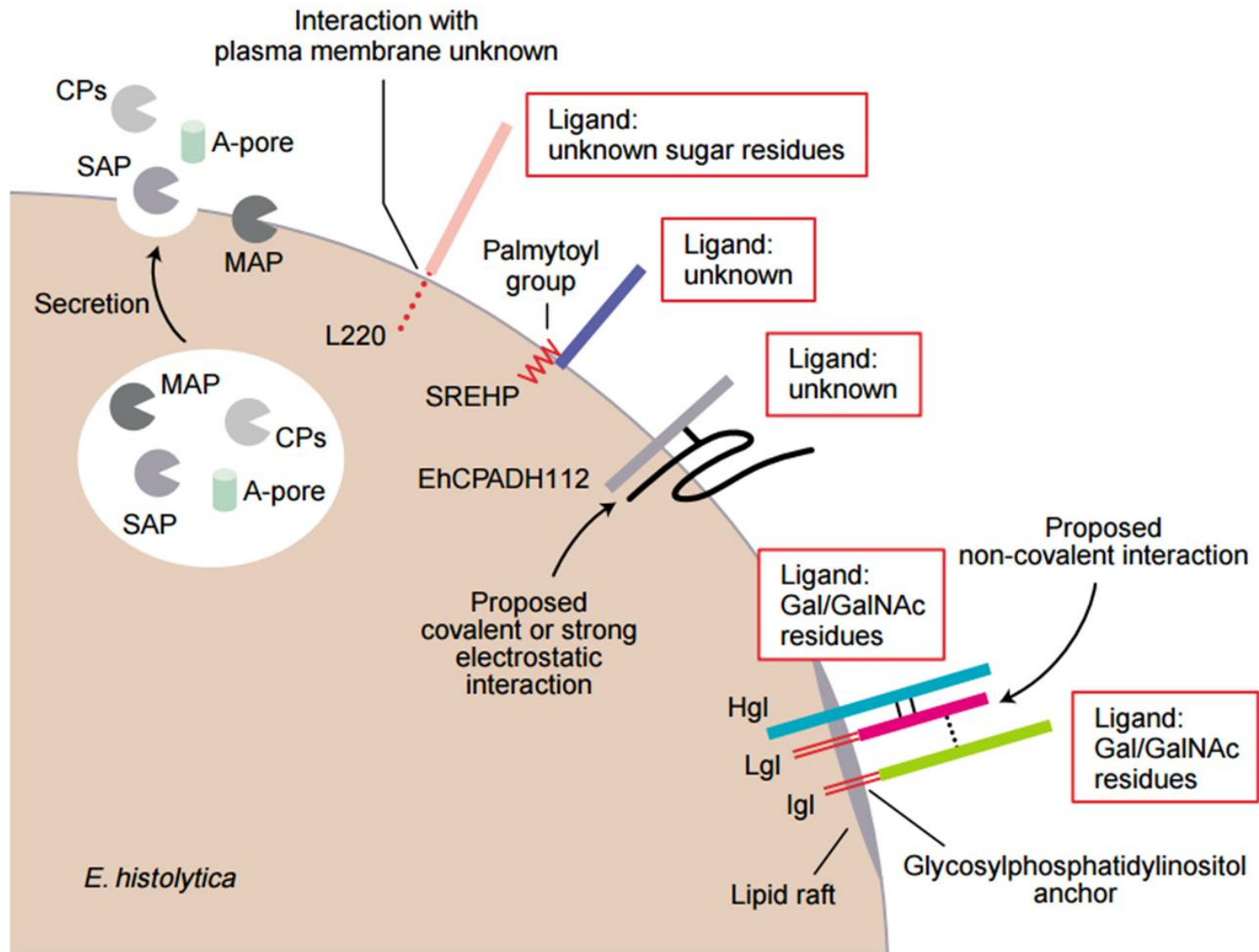
GTPases

Kinases

^a *E. histolytica* acquires nutrients through endocytosis of cell debris, fluid phase particles, erythrocytes, bacteria and whole cells. The ability to endocytose has been correlated with the virulence of the organism. The endocytic process can be divided into two distinct pathways: pinocytosis and phagocytosis. Factors that influence these pathways either positively (+) or negatively (-) are shown. The precise effects of some factors are not fully known (?).

^b Pinocytosis is a constitutive event that involves the uptake of small macromolecules or fluid-phase particles. Pinocytic vesicles become increasingly acidic as they mature.

^c Phagocytosis is the regulated uptake of large particles and whole cells, such as erythrocytes.

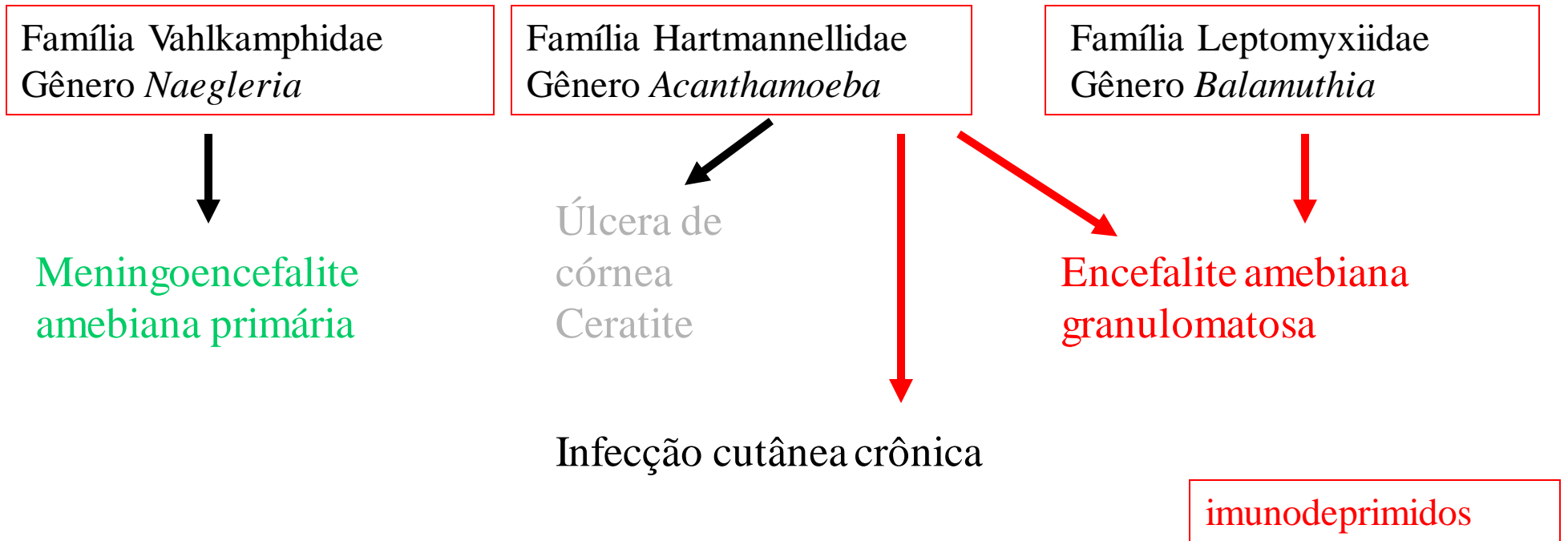


Secreted and cell-surface adhesive proteins in *Entamoeba histolytica*

Amebíase como doença oportunista

Amebas encontradas no solo e na água, bacteriófagas.

Parasitas facultativos em vertebrados.



Amebíase como doença oportunista

Mecanismos de transmissão

Naegleria fowleri

Acanthamoeba

Encontradas em todo o mundo em solo, água (rios, lagos, piscinas, esgotos, água encanada).

Cistos estáveis por 8 meses à temperatura ambiente.

***Naegleria fowleri* – contato com água, contaminação via epitélio neurolfatório
- indivíduos saudáveis**

***Acanthamoeba* – contato com água, uso de lentes de contato.
Contaminação local, via epitélio olfatório, via hematogênica.**

Temperatura, dose infectante, imunidade de mucosa, imunodeficiência

Acanthamoeba spp.

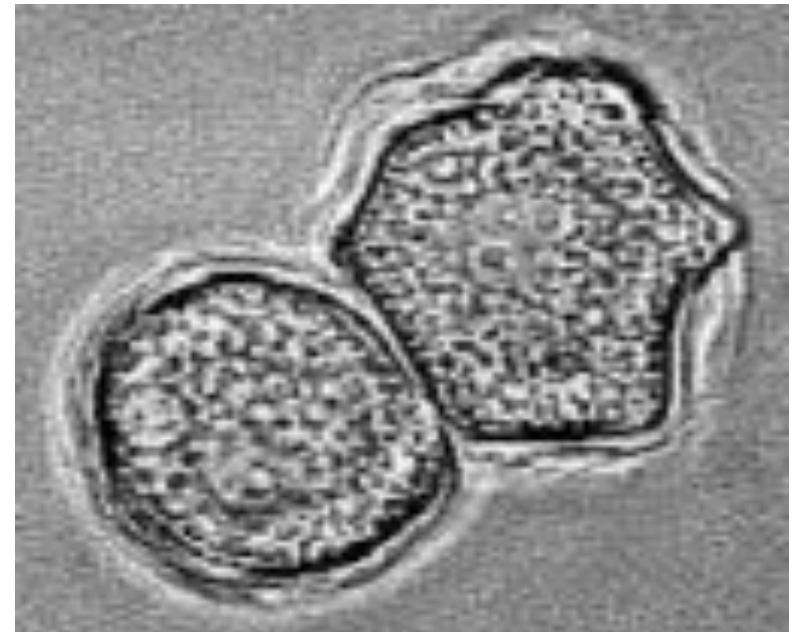
Amebas de vida livre potencialmente patogênicas



trofozoítos

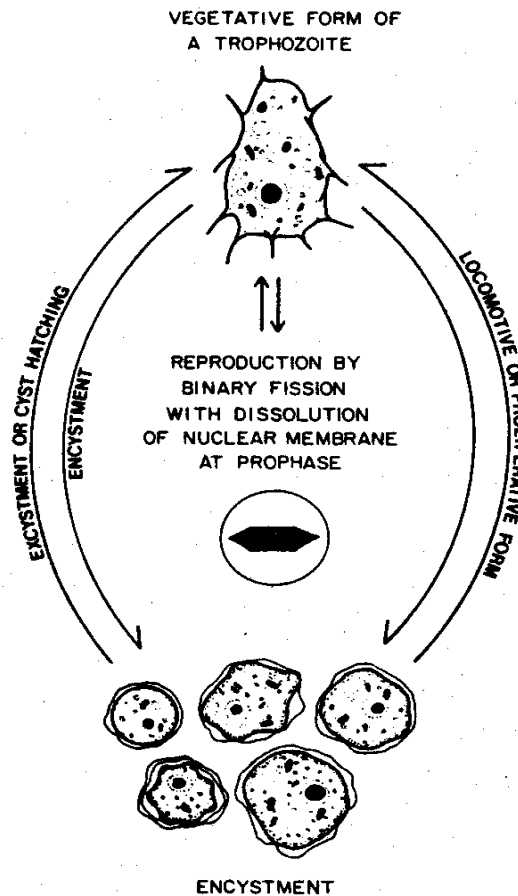
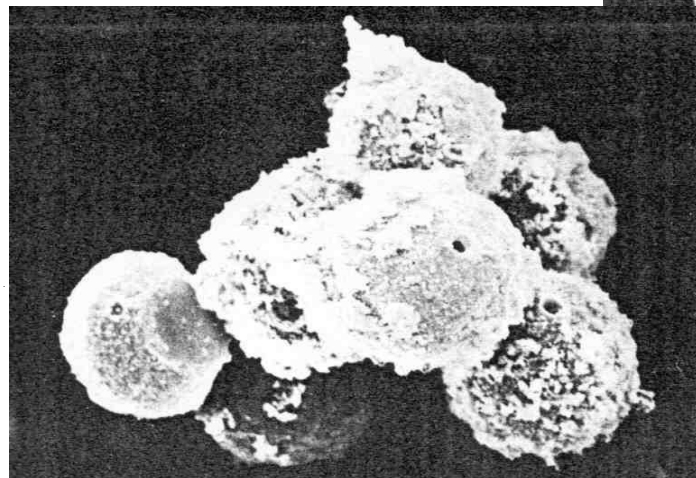
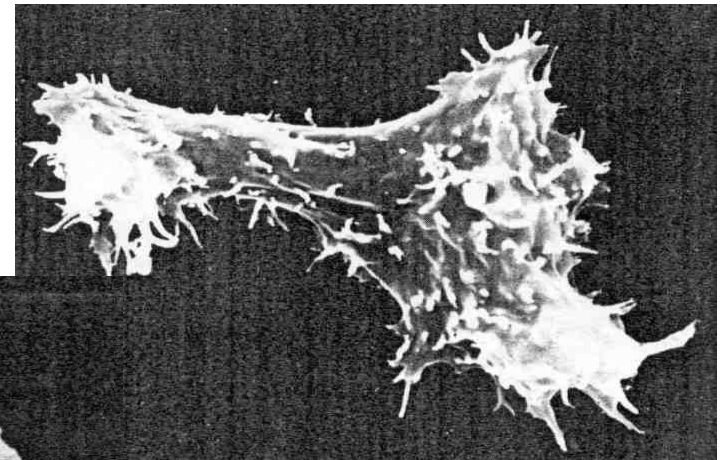
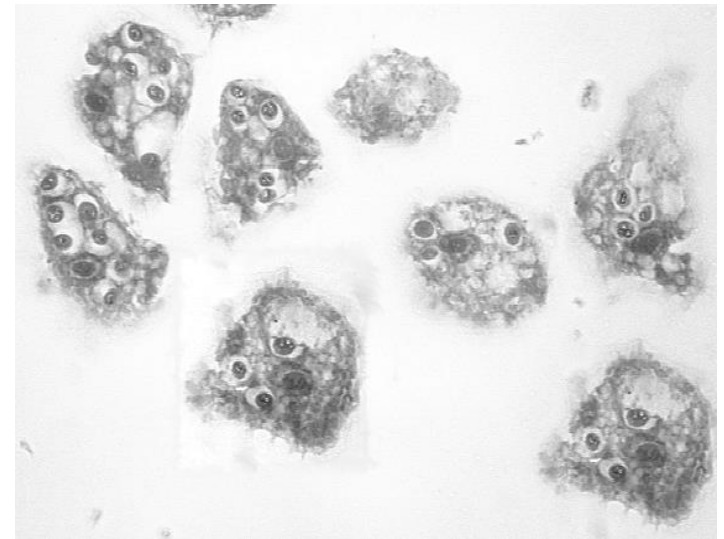


cistos

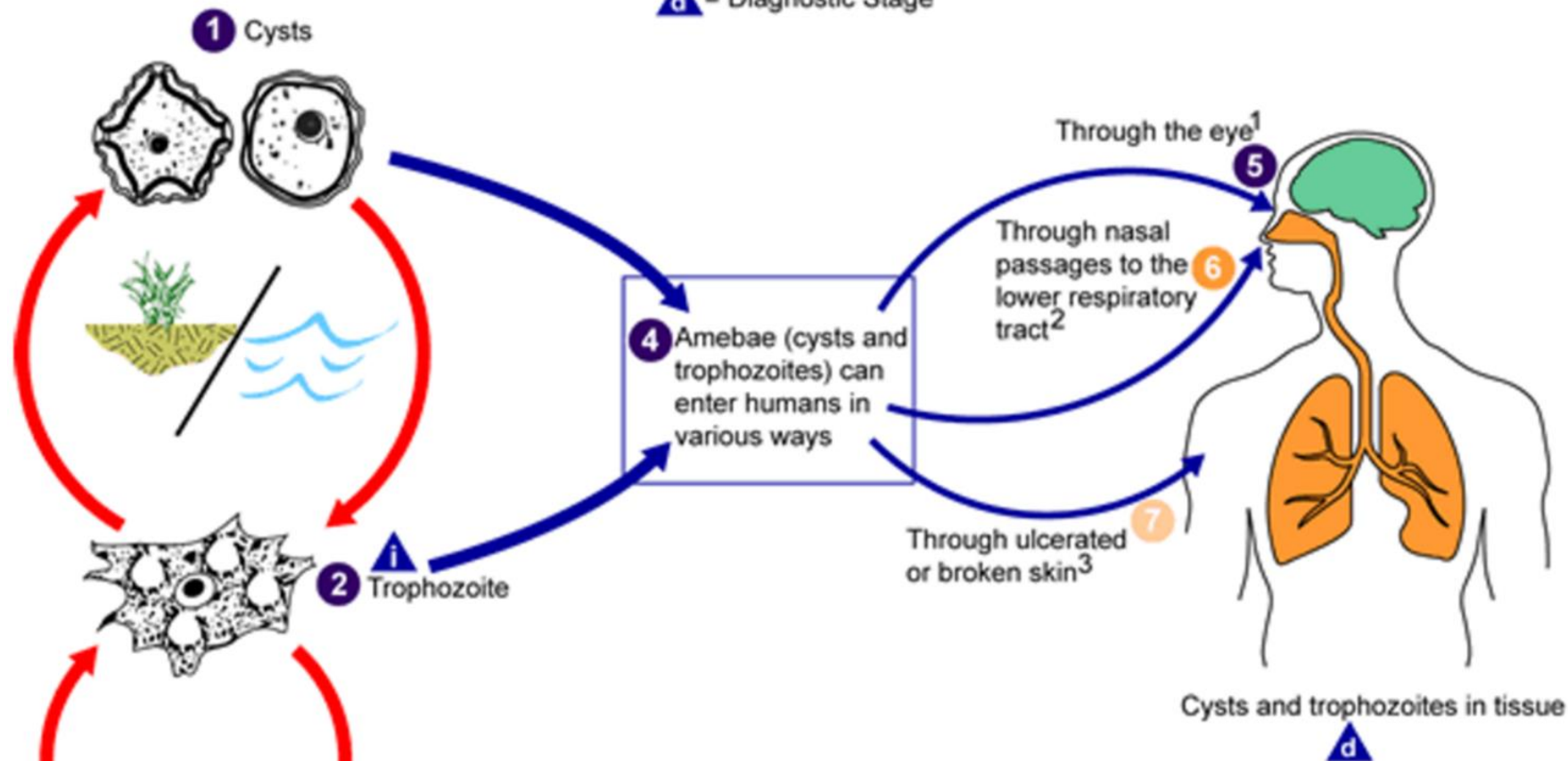


Acanthamoeba

A. culbertsoni
A. polyphaga
A. hatchetti
A. castellanii



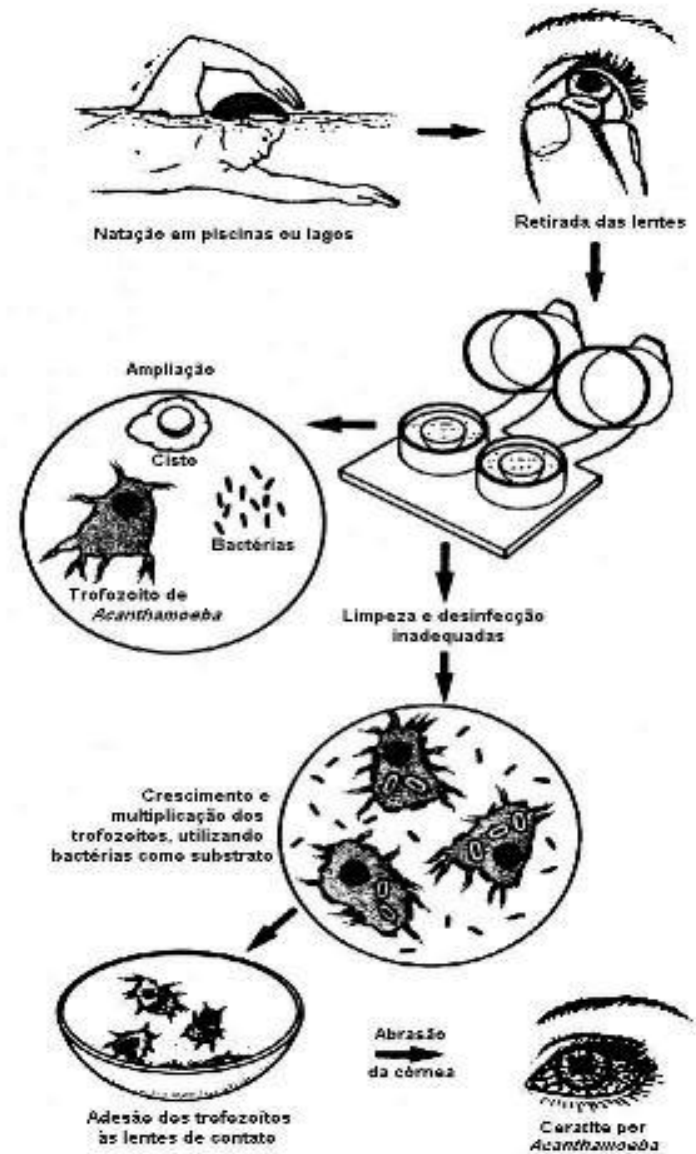
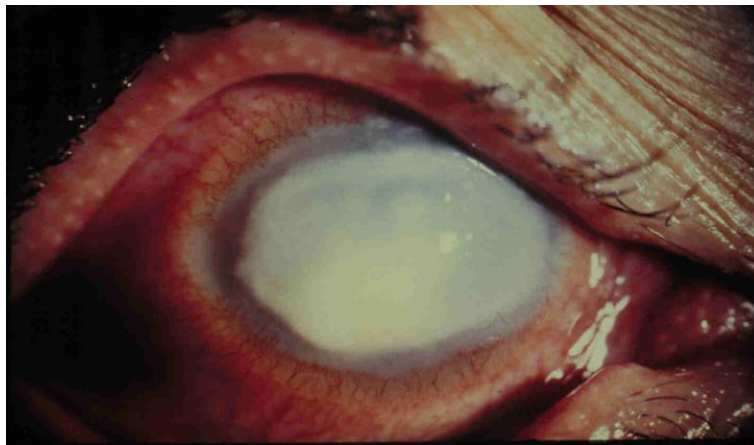
i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage



- ¹ Results in severe keratitis of the eye. **8**
- ² Results in granulomatous amebic encephalitis (**9**) and/or disseminated disease **10** in individuals with compromised immune systems.
- ³ Results granulomatous amebic encephalitis (**9**), disseminated disease **10**, or skin lesions **11** in individuals with compromised immune systems.

Acanthamoeba spp

- Infecção ocular ceratites



Acanthamoeba - Patogenia



Infecção ocular

Micro-lesão ou trauma pré-existente
(lentes de contato, por exemplo)

Contato → adesão

↓
→ efeito citopático

→ lesão/morte celular

Serino e cisteíno-proteases

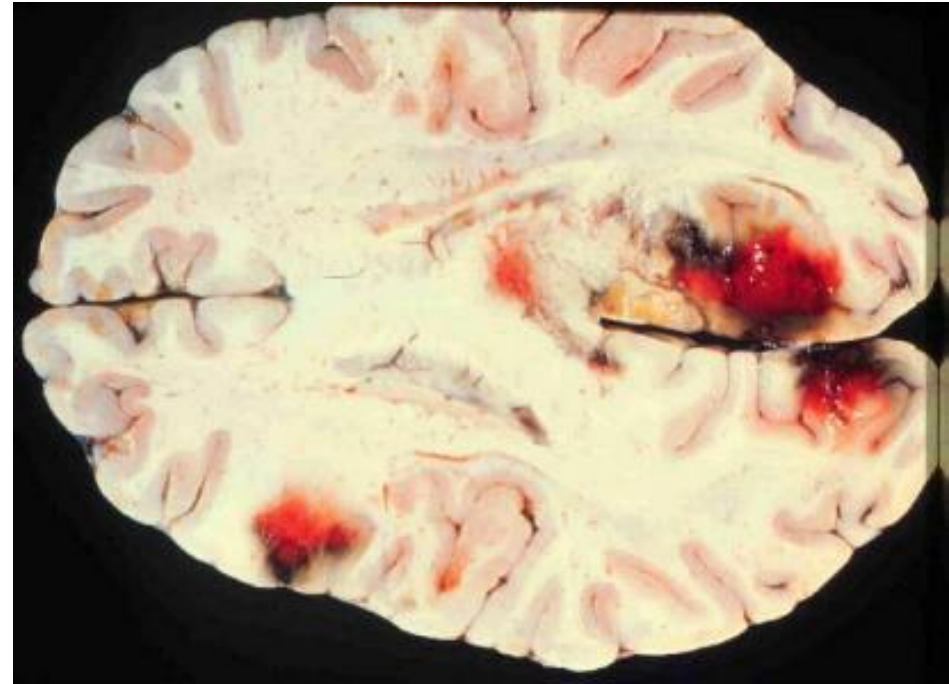
Fagocitose/apoptose

Persistência de cistos

Acanthamoeba

Pacientes com imunodepressão

↓
Infecção cutânea crônica



Encefalite amebiana
granulomatosa

Endossimbiontes – *Legionella* e outras bactérias

Amebíase como doença oportunista

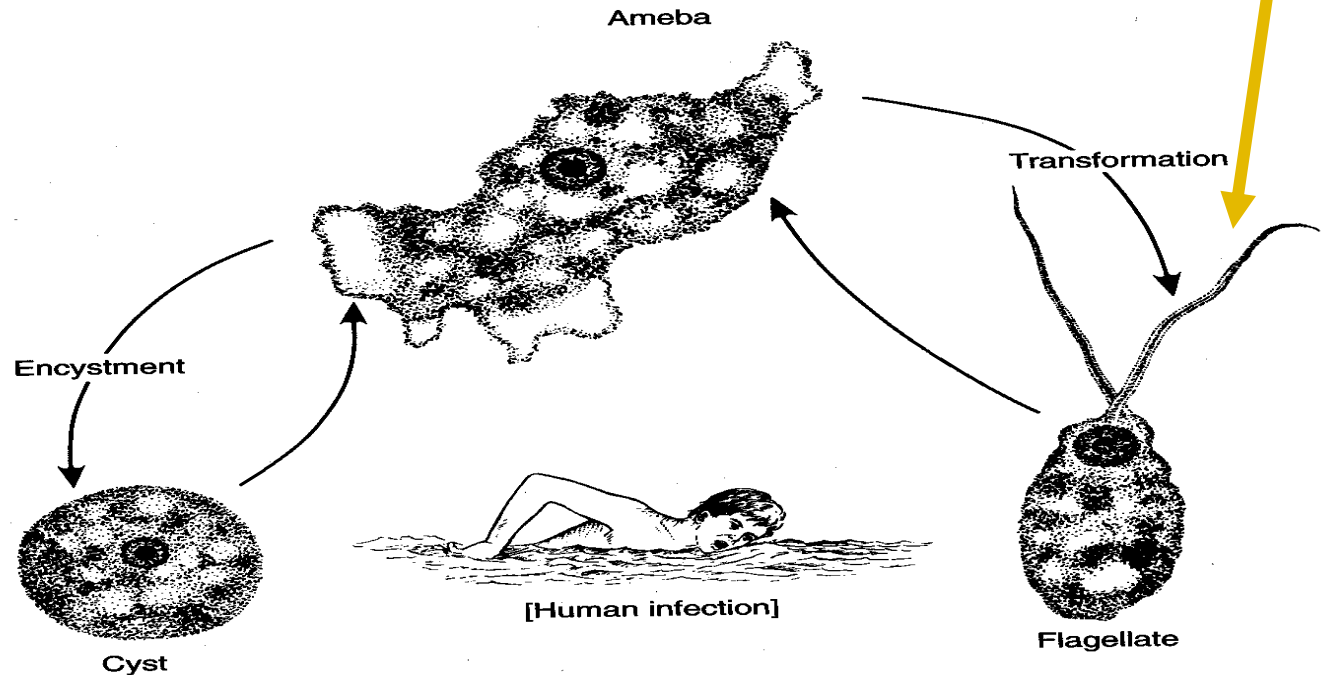
Naegleria fowleri

Família Vahlkampfiidae
Gênero *Naegleria*

Meningoencefalite amebiana primária

Forma flagelada

N. gruberi
N. lovaniensis
N. australiensis

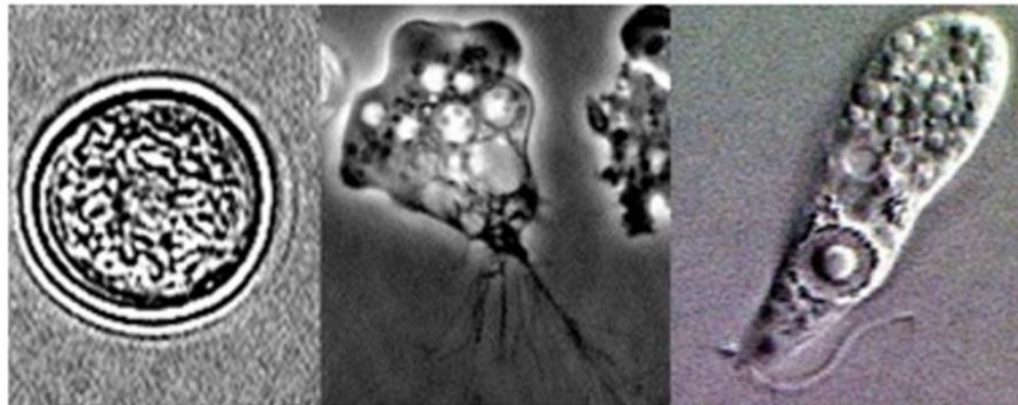


Naegleria fowleri

“The brain-eating amoeba”

Region:

- Incredibly rare, but found most commonly in the U.S
 - Between 2000-2010, 32 cases
- Found in warm, fresh bodies of water, soil near such locations, and unchlorinated swimming pools
 - 2 Deaths from Neti Pot Use

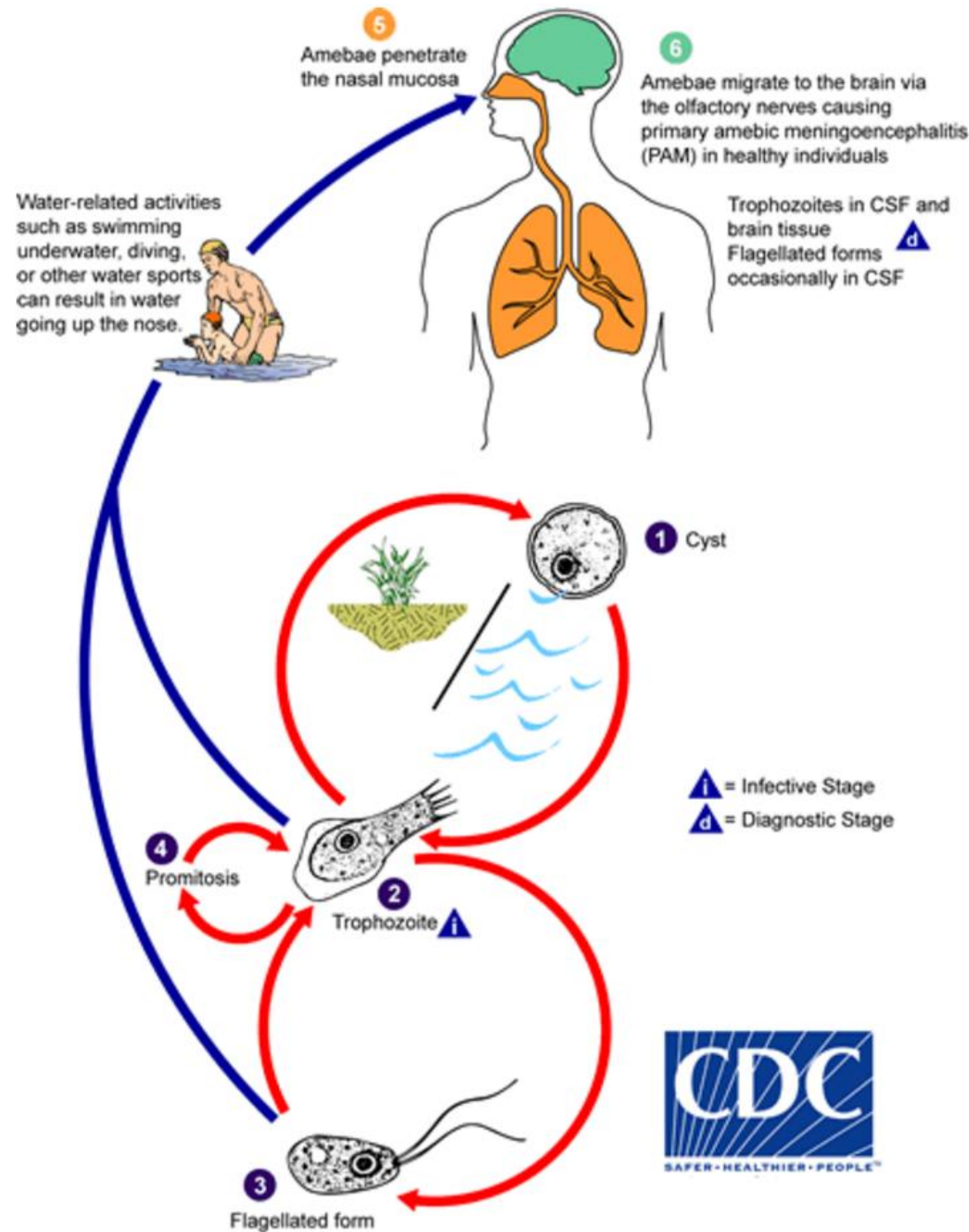


Species:

- Sensitive single-celled amoeba
 - Thermophile
 - Cannot survive in salty environments
- Has 3 stages to its life cycle:
 - Cyst Stage: Present in unfavorable conditions, inactive
 - Trophozoite: The “active” phase, it proliferates by binary fission. They feed on bacteria.
 - Flagellate: Can change rapidly back and forth to trophozoite phase, motile.



Naegleria fowleri Life cycle



Amebíase como doença oportunista

Naegleria fowleri

Patogenia

Meningoencefalite amebiana primária

Principalmente em indivíduos jovens.

Doença rara, mas fulminante.

Meningoencefalite necrotizante hemorrágica.

Mecanismos de invasão: adesão, proteína formadora de poros, proteases.

Amebíase como doença oportunista

Diagnóstico

Pesquisa de trofozoítos

Meningoencefalites - Exame do LCR

Ceratite – raspado de córnea (pode ter cistos)

Exame direto

Cultura

PCR

Naegleria fowleri test methods

Direct visualization: The motile amebae can often be seen moving rapidly under a microscope when looking at a fresh sample of CSF. The amebae can also be stained with a variety of stains, such as Giemsa-Wright or a modified trichrome stain, for identification.

Antigen Detection: A specific antibody to *Naegleria fowleri* can be used in conjunction with another antibody that deposits a chemical (immunohistochemistry [IHC]) or glows under specific types of light (indirect immunofluorescence [IIF]) to directly stain the amebic antigens in tissue.

Polymerase Chain Reaction (PCR): Specific molecular tools can amplify DNA from the amebae in CSF or tissue to specifically identify if the amebae are present. Looking at strains or subtypes of *Naegleria fowleri* can be done, but little is known about the natural populations in the environment, which makes it difficult to interpret what the findings mean.

Ameba culture: The amebae can be grown in culture to increase the likelihood of detecting the ameba by direct visualization or PCR. The sample is added to a growth plate covered in bacteria that can serve as a food source for *Naegleria fowleri*. The initial screening is accomplished by incubating the plate at a higher temperature (108°F/42°C) that kills most free-living amebae, while selecting for heat-loving (thermophilic) amebae, such as *Naegleria fowleri* or other amebae. This initial screen shows up as tracks made by an ameba as it moves across the plate eating the bacteria. If there are no amebae on the plate grown at the higher temperature, then *Naegleria fowleri* is not present. If heat-loving (thermophilic) amebae are present on the plate grown at the higher temperature, then these amebae undergo further specific testing to determine whether *Naegleria fowleri* is present since other free-living amebae can also be heat-loving (thermophilic). (NOTE: Amebae, including thermophilic amebae other than *Naegleria fowleri*, can be common in water systems but none of these other amebae cause primary amebic meningoencephalitis (PAM)).

Environmental Detection: Water samples can be collected, concentrated, and put into culture to grow and select for *Naegleria fowleri*. Samples can be tested using the serologic or molecular methods described above.

Treatment of *N. fowleri*

- Miltefosine has shown ameba-killing activity against free-living amebae, including *Naegleria fowleri*, in the laboratory;
- It has a broad phospholipid-antimicrobial activity;
- In the target cell, it acts as an protein kinase B (Akt) inhibitor. Therefore, it is also under investigation as a potential therapy against HIV infection.
- Case study: after 35 years without a *Naegleria* survivor in the United States, during the summer of 2013, 2 children with *Naegleria fowleri* infection survived. The first, a 12-year-old girl, was diagnosed with PAM approximately 30 hours after becoming ill and was started on the recommended treatment within 36 hours. She also received the investigational drug miltefosine and her brain swelling was aggressively managed with treatments that included cooling the body below normal body temperature (therapeutic hypothermia). This patient made a full neurologic recovery and returned to school. Her recovery has been attributed to early diagnosis and treatment and novel therapeutics including miltefosine and hypothermia.

